Série A, N°
N° d'ordre :

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES NATURELLES

PAR

François RAMADE

1re THÈSE. — " CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU MODE D'ACTION DE CERTAINS INSECTICIDES DE SYNTHÈSE, PLUS PARTICULIÈREMENT DU LINDANE, ET DES PHÉNOMÈNES DE RÉSISTANCE A CES COMPOSÉS CHEZ *MUSCA DOMESTICA* L."

2e THÈSE. — Propositions données par la Faculté :

" DONNÉES HISTOCHIMIQUE ET ULTRASTRUTURALES SUR LA *PARS INTER CEREBRALIS* DE *MUSCA DOMESTICA* L. "

Soutenues le 25 MARS 1968 devant la Commission d'examen.

MM. POSSOMPES — *Président*
BERGERARD, ECHALIER, PESSON — *Examinateurs*

Imprimerie Alençonnaise
B. P. 57
— Alençon (Orne) —

Série A, N°
N° D'ordre :

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES NATURELLES

PAR

François RAMADE

1re THÈSE. — " CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU MODE D'ACTION DE CERTAINS INSECTICIDES DE SYNTHÈSE, PLUS PARTICULIÈREMENT DU LINDANE, ET DES PHÉNOMÈNES DE RÉSISTANCE A CES COMPOSÉS CHEZ *MUSCA DOMESTICA* L. "

2e THÈSE. — Propositions données par la Faculté :

" DONNÉES HISTOCHIMIQUE ET ULTRASTRUTURALES SUR LA *PARS INTER CEREBRALIS* DE *MUSCA DOMESTICA* L. "

Soutenues le devant la Commission d'examen.

MM. POSSOMPES *Président*
BERGERARD
ECHALIER *Examinateurs*
PESSON

Imprimerie Alençonnaise
B. P. 57
— Alençon (Orne) —

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

UNIVERSITÉ DE PARIS
FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

PROFESSEURS

Doyen . . . . . M. Zamansky

Janvier 1968

Grasse. . . .	T	Évolution des êtres organisés
Prévost. . . .	T	Chimie organique
Wyart	T	Minéralogie et cristallographie
Teissier. . . .	T	Zoologie
Auger	T	Physique quantique et relativité
Monnier . . .	T	Physiologie générale
Piveteau. . .	T	Paléontologie
Rocard. . . .	T	Physique E.N.S.
Cartan. . . .	T	Mathématiques E.N.S.
Laffitte . . .	T	Chimie générale
N L	T	Géométrie supérieure
Coulomb . . .	T	Physique du globe
Chrétien. . .	T	Chimie minérale
Bocquet . . .	T	Zoologie
Kastler . . .	T	Physique E.N.S.
Ephrussi . . .	T	Génétique
Gautheret . .	T	Biologie végétale C.P.E.M.
Lucas R.. . .	T	Recherches physiques
Thomas A. . .	T	Biologie
Morand. . . .	T	Physique enseignement
Soleillet. . .	T	Physique C.P.E.M.
Fortier. . . .	T	Mécanique expérimentale des fluides
Drach	T	Biologie maritime
Queney. . . .	T	Météorologie et dynamique de l'atmosphère
Gallien. . . .	T	Embryologie
Cauchois Mlle.	T	Chimie Physique
Thellier. . .	T	Physique du Globe
Poncin. . . .	T	Mécanique générale
Dubreil . . .	T	Arithmétique et Théorie des nombres
Cagniard. . .	T	Géophysique appliquée
Champetier. .	T	Chimie macromoléculaire
Cuvillier. . .	T	Micropaléontologie
Trillat. . . .	T	Microscopie et diffraction électronique
Wiemann. . .	T	Chimie organique et structurale
Vassy	T	Physique de l'atmosphère
Destouches. .	T	Théorie physique
Amiel	T	Chimie générale
Mathieu J.-P..	T	Physique optique
Couteaux. . .	T	Cytologie
Choquet . . .	T	Théorie des fonctions et topologie
Feldmann. . .	T	Biologie végétale marine
Jost	T	Physiologie comparée
Fortet. . . .	T	Calcul des probabilités et physique mathématiq.
Schwartz. . .	T	Calcul différentiel et intégral
Houard. . . .	T	Physiologie végétale
Malavard. . .	T	Aviation (technique aéronautique)
Brelot. . . .	T	Analyse supérieure
Eichhorn. . .	T	Botanique
Benard. . . .	T	Chimie appliquée
Dugue	T	Statistique mathématique
Soulairac. . .	T	Psychophysiologie
Ulrich	T	Physiologie végétale appliquée
Kirrmann. . .	T	Théories chimiques
Chadefaud . .	T	Botanique
Le Breton Mlle.	T	Physiologie de la nutrition
Lelong. . . .	T	Application de l'analyse à la géométrie
Devillers .. .	T	Anatomie comparée
Ehresmann. . .	T	Topologie algébrique
Françon . . .	T	Physique S.P.C.N.
Glangeaud. . .	T	Géographie physique, géologie dynamique
Godement . . .	T	Mathématiques M.G.P.
Pisot.	T	Techniques mathématiq. de la physique
Roch.	T	Géologie
Schatzmann. . .	T	Astrophysique
Termier . . .	T	Géologie générale
Zamansky. . .	T	Mathématiques générales
Lennuier. . .	T	Physique M.G.P.
Routhier. . .	T	Géologie appliquée
Tonnelat Mme .	T	Physique théorique
Dixmier. . . .	T	Mathématiques M.P.C.
Souchay . . .	T	Chimie générale
Aigrain. . . .	T	Électrotechnique
Brusset . . .	T	Chimie systématique
Lévy.	T	Physique théorique des hautes énergies
Chaix Mme . .	T	Chimie biologique
Hurel Py Mme .	T	Biologie végétale C.P.E.M
Pannetier . .	T	Chimie générale I
Normant . . .	T	Synthèse organique
Yvon.	T	Théories physiques
Cotte.	T	Physique électricité
Dubois J.-E. .	T	Chimie organique physiq.
Lamotte . . .	T	Zoologie E.N.S.
Olmer	T	Énergétique générale
Gauthier. . .	T	Mécanique appliquée
Barchewitz. .	T	Chimie physique
Brossel. . . .	T	Physique atomique
Buser.	T	Physiologie comparée
Camus	T	Physiologie végétale
Curien. . . .	T	Minéralogie et cristallographie
Possompes. . .	T	Zoologie
Pullmann. . .	T	Chimie quantique
Teillac . . .	T	Physique nucléaire et radioactivité
Ville.	T	Économétrie
Freymann. . .	T	Recherches physiques
Rollet. . . .	T	Chimie minérale
Josien Mlle. .	T	Chimie S.P.C.N.
Chevalley . .	T	Géométrie algébrique et théorie des groupes
Germain . . .	T	Mécan. Théo. des fluides
Lucas G.. . .	T	Géologie
Allard. . . .	T	Chimie physique
Berthelot . .	T	Physique des particules fondamentales
Bricard . . .	T	Météorologie
Albe-Fessard Me	T	Psycho-physiologie
Julia M. . . .	T	Étude des molécules naturelles complexes
Magat	T	Physico-chimie des rayonnements
Monod	T	Chimie du métabolisme
Brun.	T	Mécanique des fluides I
Dubreil Mme. .	T	Mathématiques (Agrégation)
Lelong Mme. .	T	Mathématiques II E.N.S.

Bellair.	T	Géologie S.P.C.N.
Bouissières. . .	T	Radiochimie
Couture Mme .	T	Thermidynamique et mécanique
Franc	T	Biologie animale C.P.E.M.
Schnell.	T	Botanique tropicale
Stolkowski. . .	T	Physiologie générale
Acher	T	Chimie biologique
Baudoin	T	Biologie animale C.P.E.M.
Beaumont. . . .		Biologie animale S.P.C.N.
Blamont		Géophysique ionosphère
Boureau	T	Botanique
Curie D.		Physique M.G.P.
Durand Delga .	T	Géologie
Heller.	T	Physiologie végétale
Tortrat	T	Calcul des probabilités
Cailleux. . . .	T	Géologie S.P.C.N.
Magnan.	T	Physique électricité
Daudel.	T	Mécanique ondulatoire
Choquet-Bruhat Mme	T	Mécanique analytique et mécanique céleste
Veil Mlle. . . .	T	Physiologie générale
Lwoff	T	Microbiologie
Siestrunck. . .	T	Mécanique physique et expérimentale
Cabannes. . . .	T	Mécanique théorique
Caire.	T	Géographie physique et géologie dynamique
Comolet	T	Mécanique des fluides
Delloue	T	Physique de l'exosphère
Houillon. . . .	T	Biologie animale
Olivier.	T	Anthropologie
Samuel.	T	Mathématiques (E.N.S. (jeunes filles)
De Possel . . .	T	Analyse numérique
Charlot	T	Chimie analytique
Chatelet. . . .	T	Chimie C.P.E.M.
Mattler	T	Physique S.P.C.N.
Aubouin	T	Géologie
Benoit-Gueutal Mme	T	Physique nucléaire et radioactivité
Bougis		Biologie végétale marine Villefranche-sur-Mer
Rigaudy	T	Chimie S.P.C.N.
Collongues. . .	T	Chimie appliquée
Dubert.		Biochimie
Nozières	T	Physique fondamentale
Cadiot		Chimie organique
Ivanoff.	T	Océanographie physique
François		Zoologie
Talbot.		Génie chimique
Nougarède Mme.		Botanique
Bruhat.	T	Mathématiques M.P.C.
Fournet		Électricité générale
Deheuvels . . .	T	Mathématiques propédeutique
Furon	T	Géologie S.P.C.N.
Gans Mme. . . .	T	Génétique
Geneves		Biologie végétale C.P.E.M.
Hupe.	T	Pétrographie
Hollande. . . .	T	Biologie générale
Lions.	T	Analyse numérique
Maitte.	T	Chimie organique
Nicolas.		Géologie appliquée
Panigel		Biologie générale
Ravier.	T	Pétrographie
Morel F	T	Physiologie comparée
Roseau.	T	Mécanique théorique des fluides
Roubine	T	Électronique E.S.E.
Silber	T	Chimie C.P.E.M.
Uebersfeld. . .	T	Électronique
Thiry	T	Mécanique céleste
Abeles.	T	Physique S.P.C.N.
Amat.	T	Thermodynamique
Balkanski . . .		Physique M.P.C. 1
Le Corre. . . .	T	Électricité
Nataf	T	Physique nucléaire et radioactivité
Echalier. . . .		Biologie animale C.P.E.M.
Barraud	T	Physique C.P.E.M.
Dars.		Géologie structurale et appliquée
Camefort. . . .		Botanique (Agrégation)
Vichniewsky . .	T	Mécanique industrielle
Sigwalt		Chimie S.P.C.N.
Blaquière . . .		Automatique
Baruch.		Physique propédeutique
Arnous.	T	Physique théorique
Sloninski. . . .		Génétique
Malliavin . . .	T	Mathématiques propédeutique
Gaudemar . . .		Chimie propédeutique
Brousse	T	Mécanique théorique
Rosch	T	Astronomie
Guy	T	Physique expérimentale
Lazard.	T	Mathématiques M.P.C.
Morel P.		Physique M.P.C.
Arsac		Programmation
Lefebvre. . . .	T	Chimie M.P.C.
Bok		Physique fondamentale
Chapeville. . .		Biochimie
Benoit		Physique C.P.E.M.
Rio.		Chimie C.P.E.M.
Jauzein.		Géologie E.N.S.
Prévost G. . . .		Biologie cellulaire
Favard P. . . .		Biologie animale C.P.E.M.
Charniaux-Cotton Mme		Évolution des êtres organisés
Ficini Mlle . . .		Chimie C.P.E.M.
Lequeux		Astronomie
Cohen-Tannoudji		Physique atomique
Hervé	T	Mathématiques
Pecker-Wimel Mme	T	Astrophysiques
Tavernier . . .		Physique P.C.
Durand Michel .		Biologie animale S.P.C.N.
Pascaud		Physiologie
Petit Mme . . .		Biologie animale C.P.E.M.
Cagnac.		Électricité
Falk-Vairant. .		Physique nucléaire
Krasner	T	Mathématiques
Benzecri. . . .	T	Statistiques
Vinh Mau . . .		Physique M.G.P.
Duquesnes . . .		Physique C.P.E.M.
Schutzenberger.	T	Programmation
Trémillon . . .		Chimie M.P.C.
Fayard.		Chimie M.P.C.
Buvet		Chimie C.P.E.M.
Authier		Minéralogie et cristallographie
Bonnefille. . .		Électrotechnique
Puiseux Dao Me		Biologie végétale
Berger.	T	Géométrie supérieure
Libermann Mlle.	T	Mathématiques
Dedonder . . .	T	Biologie cellulaire
Dufour.	T	Électronique I.U.T.
Schaal.		Chimie C.P.E.M.
Bauchot		Anatomie comparée
Lance		B.V. C.P.E.M.
Giraud.		Botanique E.N.S.
Hulin		Physique P.C.
Vigier		Génétique
Guern		Biologie végétale
Slodzian		Physique C.P.E.M.
Lacombe		Logique mathématique
Tavlitzki. . . .		Biologie cellulaire
Arvieu.		Physique C.P.E.M.
Taxi		B.A. C.P.E.M.
Collenot. . . .		B.A. C.P.E.M.
Basselier. . . .		Chimie propédeutique
Badoual		Électronique I.U.T.

Le Secrétaire Général :
R. POULLAIN.

SOMMAIRE

INTRODUCTION 11

LE MATÉRIEL EXPÉRIMENTAL ET LES MÉTHODES D'ÉLEVAGE :

A. — Les principales souches de *Musca domestica* élevées au laboratoire . . 14

B. — Techniques d'élevage 15

Première partie

ÉTUDE DE CERTAINS ASPECTS DE L'INTOXICATION DE LA MOUCHE DOMESTIQUE PAR LES INSECTICIDES DE SYNTHÈSE

I. — SYMPTOMATOLOGIE DE L'INTOXICATION PAR LES INSECTICIDES 23

A. — *Aspects cliniques :* 23

1° Étude de l'intoxication par le lindane, représentation actographique 24

2° Symptomatologie de l'intoxication par le D.D.T. 29

3° Symptomatologie de l'intoxication par les esters phosphoriques 31

4° Symptomatologie de l'intoxication par les carbamates 33

B. — *Troubles physiologiques.* 35

II. — HISTOPATHOLOGIE ET CYTOPATHOLOGIE DES INSECTES INTOXIQUÉS AVEC DU LINDANE OU AVEC CERTAINS PHOSPHATES ORGANIQUES 40

A. — *Rappel des principales données acquises* 40

1° Lésions du système nerveux. 40

2° Action sur les enzymes respiratoires 43

3° Action des insecticides sur les autres tissus 44

B. — *Recherches personnelles sur l'histopathologie de la mouche domestique à la suite d'intoxication par le lindane et certains esters phosphoriques.* 46

1° Lésions du système nerveux en histologie classique 46

2° Altération au niveau des ultrastructures des cellules nerveuses . . 51

3° Lésions histoenzymologiques 57

III. — PERTURBATION DES FONCTIONS DE REPRODUCTION CHEZ LES MOUCHES DOMESTIQUES INTOXIQUÉES AU LINDANE 59

A. — *Rappel des données antérieures* 60

B. — *Observations personnelles* 63

1° Effets du traitement au lindane sur les femelles survivantes 64

2° Effets du traitement au lindane sur la population 67

3° Effets du traitement au lindane sur la physiologie ovarienne 68

IV. — Mécanisme de la résistance aux insecticides 72

A. — *Physiologie comparée de la résistance* 74
1° La vitesse de métabolisation du lindane chez divers insectes 74
2° La nature des métabolites produits par les réactions détoxifiantes . 77
3° La nature des systèmes enzymatiques intervenant dans la détoxification selon l'état physiologique de l'insecte et la sensibilité ou la résistance de la souche 80
4° Importance du rôle de la dégradation enzymatique dans les mécanismes physiologiques de la résistance 82

B. — *Conclusions* 82

Deuxième Partie

MODALITÉS DE L'ACQUISITION ET DE LA PERTE DE LA RÉSISTANCE AU LINDANE CHEZ LA MOUCHE DOMESTIQUE

I. — Les techniques de tests insecticides 89

A. — *Le choix de l'échantillon* 90

B. — *La réalisation des tests* 92
1° Tests mortalité-dose et mortalité-concentration 92
2° Tests mortalité-temps, description d'une étuve à tests insecticides. 96

C. — *Analyse statistique des résultats des tests* 100

II. — Les conceptions actuelles sur l'apparition des souches résistantes 115

A. — *De l'existence d'une sélection génétique comme processus d'isolement des souches résistantes* 116
1° Analyse génétique de la résistance au lindane 116
2° Remarques 120

B. — *De l'existence de processus d'adaptation directe et progressive des insectes aux insecticides* 122

III. — Le développement de la résistance aux insecticides dans la souche R (I.N.A.) et ses caractères 133

A. — *Historique de la souche R (I.N.A.)* 133

B. — *Action comparée du lindane sur les souches résistantes et sensibles* . . . 136
1° Résultats des tests mortalité-temps 136
2° Résultats des tests mortalité-temps et mortalité-concentration sur des échantillons ne comportant que des femelles 138
3° Résultat des tests mortalité-dose 141

C. — *Influence de divers facteurs abiotiques et biotiques sur la résistance au lindane* 148
a) Influence de facteurs abiotiques 148
1° Influence de la température et l'hygrométrie 148
2° Influence de l'éclairement 150
3° Influence des radiations ionisantes 150
4° Influence des narcotiques 153
b) Influence de facteurs biotiques 154
1° Influence du poids des mouches 154
2° Influence du sexe 156
3° Influence de l'âge 157

D. — *Phénomènes de résistance simultanée à plusieurs insecticides, détermination du spectre de résistance de la souche R (I.N.A.)* 160

IV. — Rôle du sexe dans la transmission de la résistance au lindane dans la souche R (I.N.A.) 168

V. — Variation de la résistance de la mouche domestique au lindane sous l'influence de facteurs non génétiques 173

A. — *Sur l'absence apparente de facteurs sélectifs dans l'isolement de la souche R (I.N.A.)* 173
1° Bionomie comparée des souches R (I.N.A.), S (I.N.A.) et O.M.S. 173
2° Action des doses subléthales de lindane sur la longévité de la souche R (I.N.A.) 178
3° Accroissement de la résistance de la souche R (I.N.A.) au contact de doses réellement subléthales 181
4° La réversion de la résistance au lindane de R (I.N.A.) 187
5° Comparaison du potentiel biotique des mouches sensibles et résistantes élevées en l'absence de contact avec le lindane 193

B. — *Présence de faits d'accoutumance physiologique dans la souche R (I.N.A.)* 198
1° Accoutumance au lindane de R (I.N.A.) sous l'influence d'une exposition des adultes à des doses subléthales. 198
2° Effets d'un traitement à des doses subléthales sur le niveau de résistance de la descendance. 203
3° Essai de modification du niveau de résistance d'une souche sensible par injection de broyats d'œufs d'une souche résistante 208

VI. — Résumé et discussion des principaux résultats expérimentaux . 212

VII. — Conclusion 219

VIII. — Summary 221

Zusamenfassung 224

Résumé en russe 226

IX. — Bibliographie 228

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41523703_0084

AVANT-PROPOS

Avant d'aborder l'exposé de ce mémoire, il m'est particulièrement agréable de remercier mon Maître, Mr le Professeur Pesson, auquel je dois beaucoup. Étant entré à son service comme Assistant, en 1958, il me proposa d'étudier le déterminisme de la résistance aux insecticides et ce sujet, aujourd'hui encore brûlant d'actualité, s'avéra fructueux. Pendant toute la durée de ce travail, son amicale bienveillance, ses encouragements et ses nombreux conseils ne m'ont jamais fait défaut, je suis heureux de lui exprimer ici ma respectueuse et affectueuse reconnaissance.

M. le Professeur Possompes a bien voulu s'intéresser à mes recherches. Après m'avoir proposé de collaborer aux travaux dirigés de son Certificat d'Entomologie approfondie, il m'accorda plusieurs entretiens et me convainquit de l'importance des investigations physiologiques — orientation que j'ai essayé de donner à ce travail. Je le prie de bien vouloir accepter ma respectueuse gratitude.

M. le Professeur Bergerard, Doyen de la Faculté des Sciences d'Orsay, dont je fus autrefois l'élève au Certificat de Zoologie de la Sorbonne, et M. le Professeur Echalier m'ont fait l'honneur de participer à la commission d'examen et de juger mon travail; qu'ils trouvent ici l'expression de mes remerciements très respectueux.

Je n'oublie pas que j'ai fait mes débuts dans la carrière scientifique au Laboratoire de Zoologie de l'École Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, où M. le Professeur Delmas et M. Bournier, Maître de recherches à l'I.N.R.A. me guidèrent de leurs conseils; plus tard, M. Viel, Directeur du Laboratoire de Phytopharmacie de l'I.N.R.A. où j'étais stagiaire, attira mon attention sur l'intérêt de recherches sur le mode d'action du lindane, alors inconnu. Je leur présente ici mes vifs remerciements.

Je tiens aussi à exprimer mon amicale gratitude à mes collègues et amis, C. Louis, J.-M. Pinet et M. Pussard qui ne m'ont jamais refusé leur aide matérielle lorsque je l'ai sollicitée et m'ont toujours

témoigné une constante sympathie, ainsi qu'à M. Foldi qui s'est chargé de la partie technique de microscopie électronique.

Il me faut aussi remercier les techniciens du Laboratoire de Zoologie de l'Institut National agronomique et plus particulièrement Mme Martinon qui s'est occupée de la présentation du manuscrit et qui m'a apporté une aide efficiente grâce à sa connaissance surprenante de la documentation bibliographique, M. Vallée qui a réalisé les clichés photographiques et M. Magnin qui s'est occupé de la tâche fastidieuse des élevages.

M. Lefort, Maître de Conférences et Mme Duby, Maître-Assistante de Mathématiques à l'Institut National Agronomique, m'ont toujours reçu avec bienveillance et m'ont donné de précieuses explications pour le traitement statistique de mes résultats numériques, ils ont aussi accepté de relire la partie du manuscrit relative aux techniques mathématiques utilisées dans ce travail; qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

Je tiens enfin à remercier M. Blais, Directeur de l'Institut National Agronomique et M. Lavigne qui ont accepté de publier ce travail aux Annales de l'Institut National Agronomique.

Le 14 octobre 1967.
Laboratoire de Zoologie,
Institut National Agronomique
Paris.

INTRODUCTION

Les problèmes nouveaux posés par la compréhension du mode d'action des insecticides de synthèse et des phénomènes de résistance qu'ils provoquent souvent chez les insectes ont suscité un nombre considérable de recherches. Celles-ci ont porté sur des sujets aussi divers que le métabolisme respiratoire et digestif, la physiologie nerveuse, les mécanismes enzymatiques associés, la structure et les propriétés du tégument, le développement, la reproduction, etc. Ainsi l'on peut dire que la découverte des insecticides de synthèse a été à l'origine de nombreux progrès dans nos connaissances de la physiologie générale des insectes.

Le mode d'action des insecticides demeure aujourd'hui encore imparfaitement compris malgré le grand nombre de travaux auxquels il a donné lieu. Dans le cas du Lindane, insecticide sur lequel nous avons effectué l'essentiel de nos recherches, on a souvent répété, sans grandes preuves expérimentales, qu'il s'agissait d'un poison des centres nerveux. Aussi nous a-t-il paru intéressant de préciser la symptomatologie de l'intoxication par cette substance, les modifications physiologiques et les altérations histologiques qu'elle provoque chez les insectes, plus particulièrement au niveau de la masse nerveuse céphalique. La cytopathologie des insectes après action des insecticides est encore peu avancée et l'usage de la microscopie électronique, révélant des lésions au niveau des ultrastructures des neurones, pouvait nous aider à mieux comprendre les modalités d'action de ces toxiques.

L'importance agronomique et médicale de la résistance des insectes aux insecticides explique l'ampleur des recherches entreprises sur ce sujet. En 1958, A.W.A. Brown citait déjà, dans une mise au point éditée par l'O.M.S., plus de 700 références à des travaux sur ce problème et, depuis cette date, plusieurs centaines de notes ont été publiées annuellement.

En 1961, on estimait que 98 espèces d'insectes d'intérêt médical et 35 espèces nuisibles aux cultures (dont le Doryphore, le Carpo-

capse et divers Anthonomes) présentaient une résistance à un ou plusieurs insecticides. Les cas de résistance se sont multipliés à un rythme inquiétant au cours de la dernière décennie (fig. 1) et ce

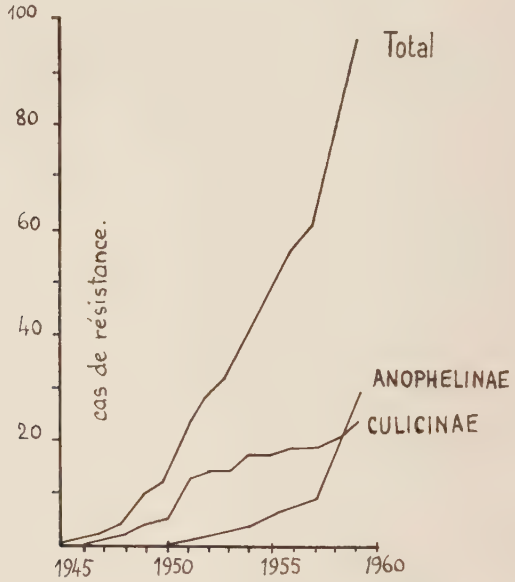


Fig. 1. — Accroissement du nombre de cas de résistance aux insecticides de synthèse, entre 1945 et 1961, chez des insectes d'intérêt médical (selon Brown, 1961).

problème atteint aujourd'hui un seuil redoutable à bien des égards : la destruction de nombreux insectes vecteurs d'affections parasitaires ou d'agents pathogènes devient de plus en plus aléatoire et met en cause la conception même des programmes d'éradication, envisagés, par exemple, dans la lutte contre le paludisme.

La résistance de la Mouche domestique au Lindane figure parmi les premiers cas signalés (1947). Cependant son déterminisme demeure assez mal compris et de nombreux aspects de ce problème sont encore peu connus, la majorité des travaux ayant été surtout orientés vers les aspects génétiques de ce phénomène ou la biochimie du métabolisme des divers isomères de l'H.C.H. par les souches résistantes (processus de détoxification).

La plupart des auteurs, qui expliquent l'apparition de la résistance aux insecticides de synthèse par le simple jeu du facteur sélectif que représente le contact avec le toxique, ont en effet, dans le but d'obtenir rapidement de hauts niveaux de résistance, utilisé de fortes doses d'insecticides, causant une mortalité égale ou supérieure à 50 p. 100. Par contre, les faibles doses semblent avoir été délibérément ignorées par de nombreux spécialistes, qui ont considéré, *a priori*, qu'elles n'exerçaient pas une « pression sélective » suffisante pour faire apparaître ou entretenir la résistance.

Toutefois certains aspects de la résistance au Lindane suggèrent l'existence de phénomènes d'accoutumance au toxique, sinon d'adaptation physiologique, non associés à la sélection d'individus préalablement résistants. Pour donner un support expérimental à une telle conception, nous avons précisément expérimenté avec de faibles doses d'insecticide, que nous appellerons doses subléthales, parce qu'elles ne causent pas de mortalité dans la population. Nous considérons en effet que dans la nature les insectes ont souvent l'occasion d'être soumis à de telles conditions. En ce qui concerne la mouche domestique, en particulier, dont les larves et les adultes vivent dans des milieux très différents, et dont les populations sont à la fois abondantes et dispersées, il est inévitable qu'un grand nombre d'individus échappent aux doses léthales. Ceux-là vont se trouver en présence de résidus toxiques dilués, ou partiellement inactivés si la substance est labile, et ne recevront que des doses subléthales de l'insecticide.

Simultanément à l'étude de l'apparition du développement de la résistance chez la mouche domestique, nous avons cherché à préciser certaines des modifications physiologiques provoquées chez l'insecte par ces doses subléthales : action sur l'activité neurohumorale et sur la fécondité.

L'ensemble des données physiologiques et biologiques ainsi recueillies nous a permis de mieux saisir dans son ensemble le problème de la résistance aux insecticides; nos recherches apportent des faits nouveaux et précis qui, s'ils ne conduisent pas toujours à des conclusions formelles, permettent d'éliminer des hypothèses antérieures dépourvues de fondements expérimentaux.

LE MATÉRIEL EXPÉRIMENTAL ET LES MÉTHODES D'ÉLEVAGE

Notre expérimentation a porté exclusivement sur la Mouche domestique (*Musca domestica* L.), dont il est possible d'obtenir un grand nombre d'individus — ce qui est indispensable pour toute investigation toxicologique — son élevage ne présentant aucune difficulté et son cycle de développement nécessitant à peine trois semaines, de l'œuf à l'œuf, dans les conditions optimales.

A. Les principales souches de musca domestica élevées au laboratoire

Toute recherche sur le mode d'action des insecticides ou la résistance des insectes à ces toxiques nécessite de pouvoir comparer à cet égard plusieurs souches résistantes ou sensibles de l'espèce étudiée et de toujours disposer d'un nombre élevé d'individus représentant un échantillon aussi homogène que possible.

Parmi les souches de *Musca domestica* élevées dans notre laboratoire, il en est 3 particulièrement importantes sur lesquelles a essentiellement porté notre étude :

1° *La souche R* (*I.N.A.*), provenant d'une population rurale réputée résistante et élevée depuis 195 générations en contact permanent, au stade imaginal seulement, avec une surface traitée par une poudre mouillable à base d'H.C.H. ou de Lindane (1).

2° *La souche S* (*I.N.A.*), génétiquement très voisine de la précédente, puisque issue de la même population rurale, mais élevée à l'abri de toute action insecticide, de sorte qu'elle est retournée à une sensibilité normale, par perte progressive de sa résistance.

3° *La souche O.M.S.*, réputée de sensibilité normale, a été utilisée à partir de 1962 dans nos expériences. Il s'est en effet révélé

(1) Rappelons que l'H.C.H. commercial est un mélange d'isomères de l'Hexachlorocyclohexane, lesquels sont au nombre de 7 (α, β, γ, δ, ε, η et θ). L'isomère α représente à lui seul 55 à 70 p. 100 du produit brut et l'isomère γ seul à posséder des propriétés insecticides intéressantes, existe au taux de 10 à 13 p. 100 dans le produit de base.

indispensable de comparer le degré de résistance de nos diverses souches à celui d'une population de référence, dont on est certain qu'elle n'a jamais été en contact avec un insecticide de synthèse. Comme il est presque impossible de trouver aujourd'hui dans la nature de telles lignées de *Musca domestica*, nous avons eu recours à la souche standard de l'O.M.S. Cette dernière a été sélectionnée par le Pr Milani, au centre des souches standard de l'O.M.S., annexé au laboratoire de Zoologie de l'Université de Pavie. Milani a obtenu cette souche par croisement de deux souches sensibles, originaires, l'une, d'Italie (Monte-Terminillio), l'autre, de Hollande (Waggeningen), et en élevant la descendance en « inbreeding » constant, aprés élimination systématique des mutants éventuels. La sensibilité de cette souche est soigneusement contrôlée à chaque génération, ce qui en fait un matériel de référence précieux pour la toxicologie des insecticides. Nous avons reçu tous les 6 mois, par les soins du Dr J. W. Wright, de l'O.M.S. et du Pr Milani, auxquels nous adressons nos remerciements, une petite population de 600 pupes présentant un niveau de sensibilité réputé normal.

Par ailleurs, nous avons élevé plusieurs souches dénommées P, initialement résistantes car issues de la souche R (I.N.A.), mais séparées plus ou moins récemment de tout contact insecticide. Enfin, un mutant récessif « green 2 » aux yeux verts et de sensibilité normale, nous a été aimablement procuré par le Pr Tsukamoto et provient du laboratoire de génétique de l'Université d'Osaka.

B. Techniques d'élevage

Nos élevages se font dans une salle insectarium climatisée à une température de 22 °C et une hygrométrie de 70 p. 100. Seuls, les adultes de la souche résistante ont été constamment isolés dans une pièce différente, où la température oscille entre 18 et 24 °C et l'humidité relative entre 40 et 60 p. 100.

Les cages d'élevage sont du format 40 × 50 × 60 cm (hauteur) avec une seule paroi grillagée formant porte amovible, fixée par des écrous sur un joint de caoutchouc, et comportant un manchon de mousseline pour déposer la nourriture ou les pondoirs. A leur

face supérieure existe un orifice circulaire obturé par une plaque coulissante, ce qui permet d'effectuer des prélèvements d'insectes. Ces cages peuvent contenir jusqu'à 5 000 individus sans risque de surpopulation.

Les cages dans lesquelles sont élevés les adultes de la souche R (I.N.A.) possèdent les mêmes dimensions mais leurs parois sont enduites d'un badigeon insecticide à base de Lindane, à la concentration de 100 milligrammes par mètre carré, renouvelé à chaque génération. Pour certaines manipulations, effectuées sur un nombre restreint d'individus, n'excédant pas 200 (études sur la fécondité par exemple), nous disposons d'un autre type de cage, aux parois de verre, sauf la face antérieure et supérieure qui sont grillagées; leurs dimensions plus faibles sont de 15 × 20 × 36 cm (hauteur).

Nous alimentons les adultes avec du sucre et du lait en poudre — indispensable pour que les œufs viennent à maturité — en outre, des abreuvoirs constitués par un petit cristallisoir renfermant de l'ouate imbibée d'eau sont mis à demeure dans les cages.

Les larves des souches R et S (I.N.A.) sont élevées dans la même salle climatisée, car aucun contact aux insecticides n'a été réalisé pour les stades préimaginaux.

Nous distinguerons deux périodes dans notre technique d'élevage. Jusqu'en décembre 1964 (154^{e} génération), les pontes étaient recueillies dans de petits cristallisoirs contenant du son et du lait. Les œufs, prélevés au pinceau étaient repiqués dans des bocaux de verre de 1,5 l de capacité, remplis aux deux tiers par un mélange de son et de lait. On plaçait environ 600 œufs par bocal, que l'on obturait par un tissu de coton fixé par un bracelet de caoutchouc. Les récipients d'élevage des larves étaient placés sous un ventilateur assurant un brassage indispensable de l'air à la surface du milieu nutritif; en effet, en l'absence de ventilation, les asticots peuvent présenter des symptômes d'asphyxie par suite d'accumulation de CO_2 et d'autres gaz de fermentation. Les parois du récipient deviennent humides et les larves cherchent alors à fuir et parviennent même à passer sous le bracelet de caoutchouc. La ventilation supprime ces tendances à l'évasion, très forte au moment de la pupaison. Cette technique d'élevage conduit à l'obtention d'adultes de belle taille (♀ pesant 28 mg ou plus) mais il présente de nombreux inconvé-

nients : impossibilité de contrôler de façon précise le nombre d'œufs placés dans chaque récipient, fermentation intense du milieu nutritif donnant un rendement très variable en adultes, suivant qu'il s'écarte plus ou moins des conditions optimales; développement abondant de moisissures formant à la surface du milieu un feutrage mycélien qui peut entraver l'éclosion des adultes. L'adjonction de mycostatine, à raison de 500 000 unités par litre de mélange nutritif, n'a pas donné des résultats probants, ces champignons paraissant peu sensibles à cet antifongique. Enfin, les bocaux doivent être placés dans les cages lors de l'éclosion des imagos, car les pupes ne peuvent être séparées du milieu, ce qui complique la manipulation.

A partir de la 155e génération des souches R et S (I.N.A.) (janvier 1965), nous avons substitué à cette technique un procédé d'élevage sur milieu gélosé dénommé Y.M.A. (Sawicki et Holbroock, 1961). Les œufs sont recueillis dans de petits cristallisoirs contenant des cylindres de coton (type tampon de stomatologiste) imprégnés par un mélange en parties égales de lait en poudre, de levure de bière sèche et d'eau. On les place le soir dans les cages d'adultes et on les retire le lendemain matin. Les œufs sont recueillis au pinceau à la surface des tampons d'ouate lorsqu'on veut effectuer des comptages précis, mais en général on verse tout le contenu d'un pondoir dans un entonnoir en verre pourvu d'un grillage à maille lâche, rempli d'eau distillée (fig. 2), sur l'embout duquel est fixé un tube de caoutchouc long de 5 centimètres environ, obturé par une pince. Les œufs récemment pondus (moins de 6 h) et les œufs stériles flottent, tandis que les œufs embryonnés tombent au fond de l'entonnoir. Après sédimentation, en relâchant la pince du tube de caoutchouc, on recueille les œufs dans un tube gradué en matière plastique transparente et obturé par un tissu de nylon fonctionnant comme filtre. Ce tube transparent mesure 5 millimètres de diamètre intérieur, 10 centimètres de hauteur. Un étalonnage préalable a permis de le graduer, chaque trait horizontal correspondant à 1 000 œufs.

Le milieu d'élevage Y.M.A. s'obtient en mélangeant 100 g de lait en poudre, 100 grammes de levure de bière sèche, 15 grammes de gélose et un litre d'eau. L'adjonction de parahydroxybenzoate de méthyle à la dose de 5 parties pour 10 000 prévient le développe-

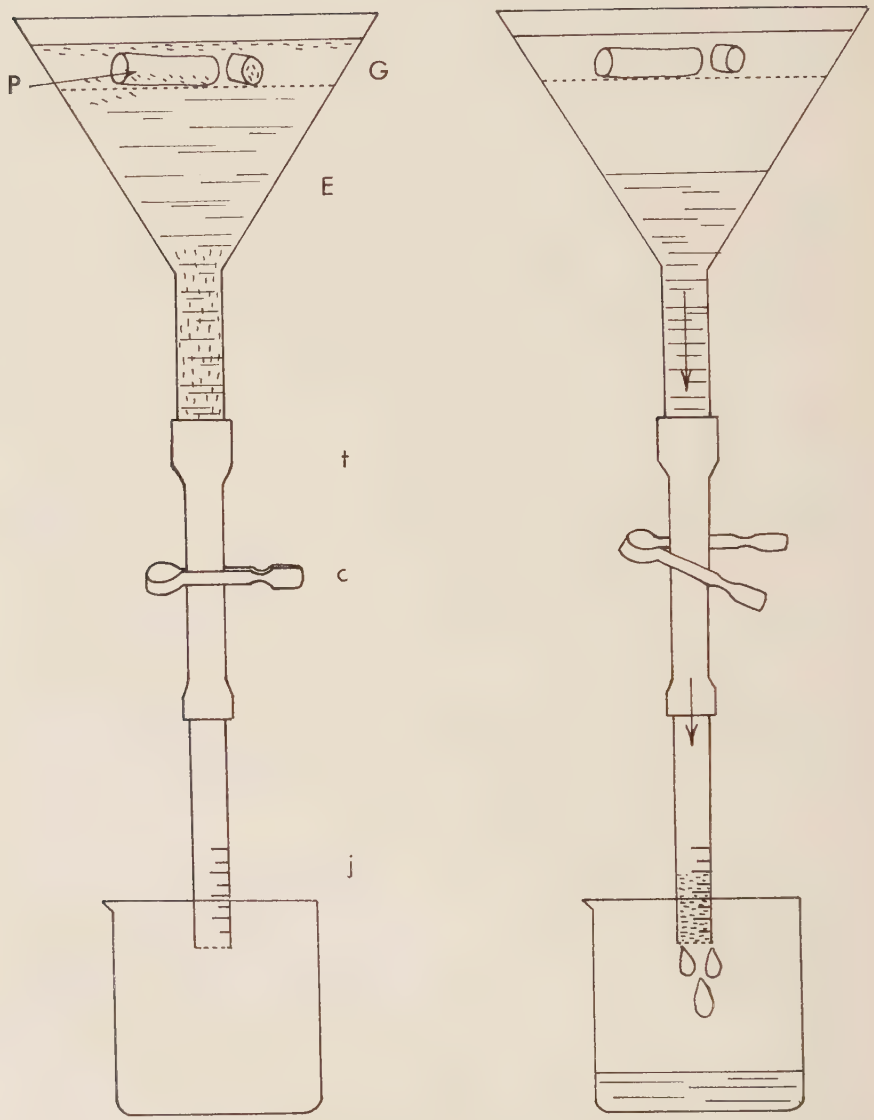


Fig. 2. — Dispositif permettant la séparation des œufs fertiles et leur numération. Les tampons de coton servant de pondoirs sont posés sur un grillage à mailles lâches dans la partie supérieure d'un entonnoir rempli d'eau. Les œufs stériles ou pondus récemment flottent, les œufs embryonnés tombent au fond de l'entonnoir. (*C*, pince; *E*, entonnoir; *g*, grillage métallique; *J*, jauge graduée; *p*, tampon d'ouate servant de pondoir; *t*, tube de caoutchouc).

ment de moisissures indésirables (*Mucor*, *Penicillium*, *Fusarium*, etc.). Le mélange, eau, gélose, lait en poudre est autoclavé à 100 °C pendant 1 heure. Après dissolution des composants, on y adjoint la levure et l'antifongique puis on le coule dans des récipients en résine synthétique transparente, mesurant 29 × 18 × 11 centimètres (hauteur) (du type des bacs de réfrigérateur) à raison de un litre de milieu nutritif par récipient. On obtient alors une épaisseur d'environ 2 centimètres de milieu, hauteur largement suffisante pour assurer le développement des larves car celles-ci ne creusent jamais au delà de cette profondeur.

Après solidification et refroidissement, on place 4 000 œufs à la surface du mélange nutritif et on recouvre l'ensemble par 7 centimètres de sciure de bois calibrée (1, 2 mm). Nous utilisons de la sciure de peuplier qui convient fort bien à cause de sa faible densité. Il faut rejeter les sciures de Conifères qui sont toxiques pour les larves. Les boîtes sont obturées par leur couvercle d'origine (contrôlé étanche), dans lequel on a pratiqué de larges orifices d'aération pourvus d'un fin grillage de cuivre.

Le milieu nutritif peut se conserver une dizaine de jours dans ces récipients si on le place dans une chambre froide à 5 °C. On ne peut différer son usage au delà, à cause des risques de moisissures.

Toutes les boîtes d'élevage sont placées dans l'insectarium, à l'intérieur d'une enceinte spéciale dans laquelle règne une température moyenne de 22 °C et dont l'air est fréquemment renouvelé par un puissant ventilateur qui le refoule à l'extérieur de la salle à un débit de 300 litres par minute. En effet, le milieu nutritif fermente et bien que sa température ne s'élève que de quelques degrés au-dessus de l'ambiance, il dégage beaucoup de gaz malodorants et riches en CO_2 pouvant asphyxier les asticots.

A l'approche de la pupaison, les asticots gagnent la couche superficielle de sciure où ils se nymphosent. Les pupes sont alors recueillies par tamisage, avec un tamis à maille convenable permettant d'éliminer toute la sciure ainsi que les pupes de faible taille. Un second passage à un tamis de plus gros calibre permet l'obtention d'un lot de pupes de poids homogène en cas de besoin pour des tests très précis. Les pupes ainsi recueillies sont ensuite placées dans les cages pour adultes où elles écloront. Afin d'éviter l'élimination de

certains individus et une sélection involontaire, nous avons toujours attendu la fin de la pupaison de tous les asticots avant de récolter les pupes de la souche R.

Dans les conditions d'élevage que nous avons adoptées, l'éclosion des œufs se fait 12 à 16 heures après la ponte, la vie larvaire dure 5 à 8 jours, la vie nymphale 5 à 7 jours et les femelles commencent à pondre 5 jours après leur sortie du puparium. La durée totale d'une génération, de l'œuf à l'œuf, a été au minimum de 25 jours car les pontes furent toujours recueillies entre le 10e et le 15e jour de la vie imaginale. Le poids moyen des pupes est de 24 milligrammes, celui des femelles de 23 milligrammes et celui des mâles 14 milligrammes.

Certaines souches sont élevées depuis 195 générations (sur une période de 15 ans) dans notre laboratoire, sans aucune diminution de fécondité ni aucun signe de dégénérescence.

La production mensuelle de notre élevage a toujours été comprise entre 20 000 et 40 000 mouches. Le rendement varie selon les souches mais se situe dans l'ensemble aux alentours de 50 p. 100 en ce qui concerne le rapport du nombre d'adultes obtenus à partir de 100 œufs. Ces résultats sont similaires à ceux publiés par d'autres auteurs avec ce même milieu nutritif (1) ou par d'autres techniques.

(1) De même que Sawicki (1961), nous avons noté parfois une mortalité élevée chez les larves avant la nymphose. Cet auteur n'a pu éviter ces incidents malgré l'adjonction de diverses substances de croissance au milieu nutritif. Nous pensons que ces irrégularités peuvent provenir d'une mauvaise fermentation du milieu. Nous avons constaté que le milieu gélosé placé entre 18 et 20° ne fermente presque pas et que, dans ces conditions, on observe une mortalité considérable des asticots. Il s'agit apparemment beaucoup plus d'une question de structure physique du mélange plutôt que de sa composition chimique. Ce milieu pas ou peu fermenté présente une consistance très dure et les larves semblent éprouver des difficultés à creuser dans celui-ci, donc à se nourrir.

Première partie

ÉTUDE DE CERTAINS ASPECTS DE L'INTOXICATION DE LA MOUCHE DOMESTIQUE PAR LES INSECTICIDES DE SYNTHÈSE ET DISCUSSION DES MÉCANISMES DE LA RÉSISTANCE

I. — SYMPTOMATOLOGIE DE L'INTOXICATION PAR LES INSECTICIDES DE SYNTHÈSE

Nous nous sommes proposés d'étudier la symptomatologie de l'intoxication par les insecticides de synthèse dans le but d'en préciser les aspects cliniques et de décrire les principaux troubles physiologiques qui l'accompagnent. Son étude revêt une grande importance dans la mesure où elle permet de mettre en évidence des analogies ou des différences dans le mode d'action des divers insecticides. Par ailleurs, il est fondamental de caractériser avec précision certains stades de l'intoxication qui sont pris en considération pour établir les courbes de mortalité dans les tests insecticides (ataxie locomotrice, knock-down, mort apparente, etc.).

A. — Aspects cliniques de l'intoxication

Il est possible de distinguer avec chaque type d'insecticide une série de symptômes se succédant régulièrement dans un ordre bien défini et qui sont indépendants du mode d'application du toxique. Bien que l'on observe des variations appréciables de la nature et la durée relative des diverses phases de l'empoisonnement, selon la substance insecticide et la dose à laquelle on l'utilise, l'intoxication d'une mouche adulte comporte toujours les séquences suivantes : une période d'hyperexcitation suivie par une phase d'incoordination des mouvements et d'ataxie locomotrice, l'insecte devenant finalement incapable de se maintenir sur un support (knock-down); enfin, un stade de paralysie progressive avec tétanisation croissante des appendices locomoteurs, qui aboutit à une mort apparente.

Il faut remarquer en effet que l'on doit différencier ce dernier stade de la mort réelle. La mort apparente, qui se caractérise par l'absence de tout mouvement perceptible, est un stade très important dans la pratique des tests; elle survient plusieurs heures avant la

mort réelle et s'en distingue par le fait que des insectes ne présentant plus aucun mouvement des pattes, des ailes ou de la trompe, montrent encore à la dissection un péristaltisme des organes internes.

1° *Étude de l'intoxication par le Lindane.*

Pasquier (1947), dans son étude sur l'intoxication de *Schistocerca gregaria* par l'H.C.H., distingue cinq étapes successives qu'il dénomme phase prodromique, phase typique, phase choréo-ataxique, phase clonique et phase paralytique (ou psérique). La description de ces phases correspond assez bien à ce que l'on observe chez *Musca*, aussi adopterons-nous cette terminologie pour les désigner.

Nos propres observations montrent en effet que l'on distingue cinq stades cliniques pendant l'empoisonnement (fig. 3).

1) Peu de temps après le contact toxique, les mouches présentent des mouvements de toilette très vifs, effectués à une fréquence insolite (nettoyage ininterrompu des tarses, des ailes et de l'abdomen) (*phase prodromique*).

2) Dans un second stade (*phase typique*), l'insecte se déplace activement le long des parois du récipient dans lequel il est enfermé. Peu à peu ses déplacements sont interrompus par des périodes d'immobilité de plus en plus fréquentes et de plus en plus prolongées. En outre, on constate que les femelles tendent à faire saillir leur ovipositeur (fig. 3).

3) Le troisième stade (*phase choreo-ataxique*) se caractérise par une hyperexcitation de l'insecte qui effectue des tentatives incohérentes de saut et de vol, accompagnées d'une incoordination des mouvements et de tremblements intenses de tous les appendices. L'insecte dispose fréquemment ses pattes de façon aberrante et ses ailes entrent en vibration extrêmement rapide sans que cela traduise une tentative d'envol. Ces périodes de vibrations alaires, d'abord séparées par des intervalles de repos vont s'accroître en durée au fur et à mesure que progresse l'intoxication, en même temps qu'elles sont plus rapprochées.

4) Au quatrième stade (*phase clonique*), la mouche tombe sur le dos et est incapable de se relever; ses appendices et les segments abdominaux sont animés de mouvements convulsifs. Cette

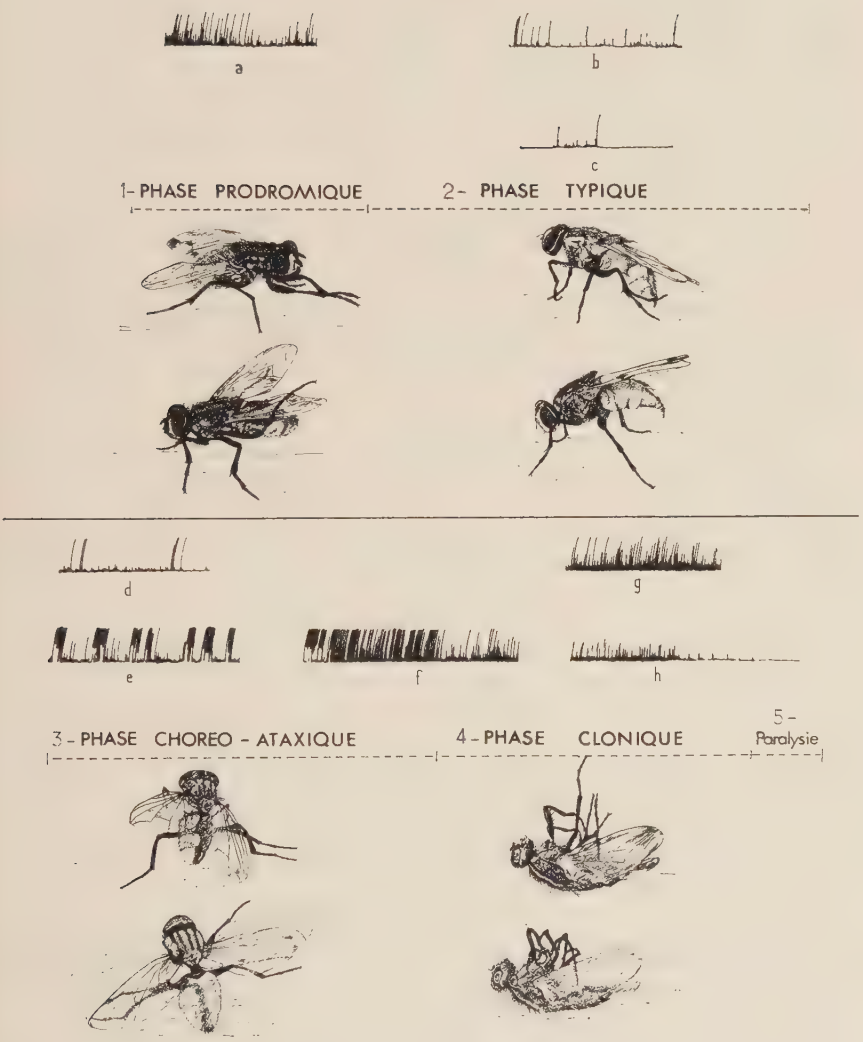


Fig. 3. — Les divers stades cliniques de l'intoxication de *Musca domestica* adulte avec le lindane. En regard de chaque phase d'intoxication sont figurés, au-dessous du trait pointillé, les symptômes les plus caractéristiques de cette phase et, au-dessus, les tracés actographiques correspondants. Phase prodromique (*a*) : mouvements de toilette des tarses et des ailes. Phase typique (*b* et *c*) : attitudes corporelles aberrantes; extrémités des tarses infléchies, ovipositeur saillant. Phase choréo-ataxique (*d*, *e* et *f* en partie) : vibrations alaires incoordonnées. Phase clonique ou knock-down (fin de *f*, *g* et *h*) : position sur le dos, les ailes repliées en éventail vers le bas.

phase correspond au « knock-down » décrit par les auteurs anglo-saxons, et tel qu'il s'observe typiquement après action des narcotiques et des pyréthrines. Dans le cas du Lindane, les ailes demeurent infléchies ventralement et l'on remarque chez les femelles gravides une protraction de l'ovipositeur accompagnée parfois d'émission d'œufs.

5) Le cinquième et dernier stade (*phase paralytique ou psérique*) se caractérise par une tétanisation et une paralysie progressives, qui conduisent à la mort apparente. La paralysie commence par les ailes puis gagne les pattes et la trompe. L'insecte, bien qu'incapable de se mouvoir spontanément, demeure cependant sensible à une excitation mécanique comme une piqûre, pendant quelque temps encore.

Si l'insecte a été intoxiqué avec une dose inférieure à sa dose léthale individuelle, il peut récupérer à plus ou moins bref délai, même après avoir atteint cette phase paralytique. Mais, si la dose absorbée a été malgré tout assez forte, il persiste souvent des séquelles permanentes. Les individus qui ont été le plus gravement intoxiqués sont frappés d'une ataxie locomotrice irréversible, souvent associée à une paralysie de la trompe. Ces derniers ne survivent en général que 36 heures ou 2 jours après l'intoxication. D'autres présentent une paralysie partielle des appendices (pattes postérieures ou ailes le plus souvent) parfois réversible. On remarque par exemple des mouches dont la dernière paire de pattes reste allongée en arrière de l'abdomen, ou dont les ailes sont dressées en éventail ouvert, ou au contraire abaissées, alors qu'elles sont normalement disposées à plat sur le dos.

Nous avons cherché à obtenir une représentation graphique des diverses phases de l'intoxication par un insecticide organique, au moyen d'un procédé actographique. Disposant au laboratoire d'actographes à détecteur électro-acoustiques extrêmement sensibles, mis au point par le Laboratoire de Physiologie acoustique de l'I.N.R.A. (1), nous avons comparé les enregistrements d'activité obtenus pendant les diverses phases de l'intoxication de mouches domes-

(1) Cf. A. J. Andrieu et ses coll. pour la description de cet appareil (Publ. en cours aux *Annales des Epiphyties de l'I.N.R.A.*).

tiques avec des insecticides variés. Nous avons ainsi la possibilité de comparer la vitesse d'apparition et la durée relative des diverses phases de l'intoxication, en même temps qu'une certaine appréciation qualitative et « quantitative » des syndromes.

L'insecte, qui a reçu par application thoracique une microgoutte de solution acétonique d'insecticide à la concentration convenable, est enfermé dans un tube en matière plastique, solidaire d'un détecteur electro-acoustique très sensible. Un amplificateur à deux étages de haut-gain, un galvanomètre scripteur et une table déroulante complètent l'équipement. Les variations d'amplitude et de fréquence du courant électrique engendré par les vibrations sonores associées aux différentes phases d'activité de l'insecte se traduisent par un graphique caractéristique (fig. 3 et 4). Un tel enregistrement s'étale normalement sur une période de 5 heures, entre le début de l'intoxication et la mort apparente.

L'étude des enregistrements obtenus avec divers insecticides nous montre qu'on peut, du point de vue clinique, répartir ces derniers en 4 groupes : lindane, organophosphates, Sevin et D.D.T., présentant chacun une symptomatologie caractéristique qui se traduit par un actogramme particulier.

L'intoxication au lindane conduit à l'obtention d'actogrammes qui montrent très nettement les 5 phases successives décrites par Pasquier. La phase prodromique, caractérisée par les réflexes de toilette ininterrompus correspond à des trains d'oscillations continues d'amplitude irrégulière (*P*, fig. 4). La phase typique comporte des périodes de repos alternant avec des déplacements de courte durée (*T*, fig. 4). On aborde ensuite la période choréo-ataxique (*Ch*, fig. 4) marquée surtout par des vibrations alaires intenses, de plus en plus rapprochées, donnant un tracé fort caractéristique. En effet, leur fréquence est si élevée que l'inertie de l'oscillographe à plume ne permet pas au stylet enregistreur de revenir en position neutre entre deux vibrations (l'aspect de ces oscillations est particulièrement net sur la figure 4, à gauche de la flèche indiquant 3 h). Cet aspect du diagramme se retrouve sur tous les enregistrements effectués après action du Lindane ou des cytopentadiènes, et précède de peu le « knock-down », ou phase clonique, dont il constitue un signe avant-coureur infaillible.

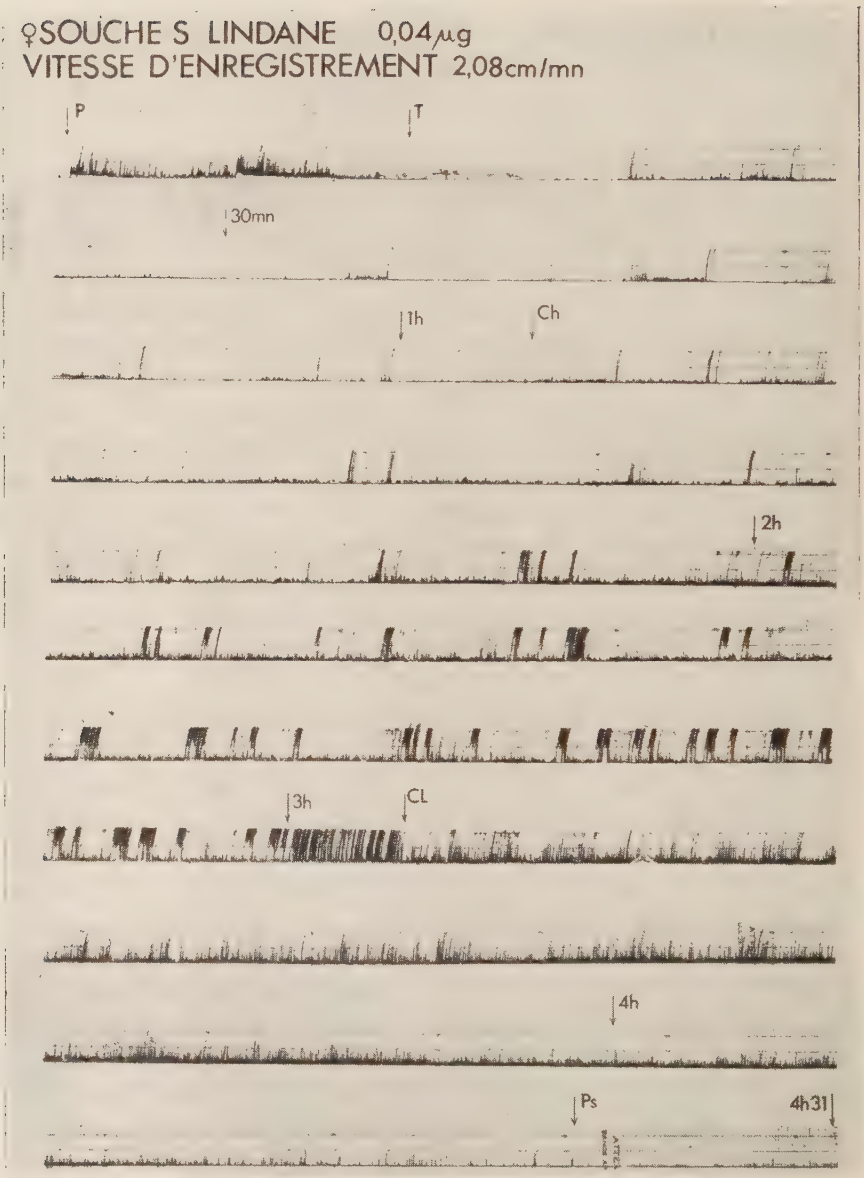


FIG. 4. — Actogramme d'une mouche domestique de souche sensible intoxiquée avec 0,04 µg de lindane en application topique. De *P* à *T*, phase prodromique; de *T* à *Ch*, phase typique, de *Ch* à *Cl*, phase choréoataxique; de *Cl* à *Ps*, phase clonique ou knock-down; à partir de *Ps*, paralysie (vitesse d'enregistrement 2,08 cm /mn).

Pendant le « knock-down » (de *Cl* à *Ps* sur la fig. 4) la mouche qui est tombée sur le dos, présente sans arrêt des mouvements convulsifs des appendices et des segments abdominaux. Elle fait parfois des tentatives infructueuses pour se redresser et marcher. Cela se traduit sur le diagramme par une série d'oscillations intenses, d'amplitude fort irrégulière mais qui tend à décroître, car la tétanisation gagne progressivement tous les appendices jusqu'à la paralysie totale. Remarquons cependant que la phase psérique est assez difficile à délimiter sur l'actogramme, car l'insecte peut paraître totalement paralysé pendant une dizaine de minutes puis produire à nouveau quelques vibrations. Celles-ci proviennent essentiellement des mouvements de protraction et de rétraction de la trompe, lesquels persistent longtemps après la tétanisation des autres appendices.

La figure 3 tente de donner une représentation synthétique de la symptomatologie de l'intoxication de la mouche domestique par le lindane. Bien entendu c'est surtout l'aspect général de l'actogramme qui est caractéristique, car la longueur relative des phases varie quelque peu selon la souche, la dose d'insecticide et même d'un individu à l'autre.

2° *Symptomatologie de l'intoxication par le D.D.T.*

L'intoxication de *Musca domestica* par le D.D.T. se caractérise par des actogrammes d'aspect fort différent des précédents. On ne distingue ici que 3 phases, les symptômes rappelant par certains points ceux de l'intoxication par les pyréthrines.

Le premier stade, assez bref, est homologue des phases prodromique et typique décrites ci-dessus. La mouche est ensuite atteinte par une ataxie locomotrice progressive qui se termine par le « knock-down ». Ce stade, homologue de la phase clonique, comporte des tentatives infructueuses de vol, alternant avec des périodes de plus en plus longues, où l'insecte tombe sur le côté et tente sans succès de reprendre une position normale. Cependant, on n'observe jamais les vibrations alaires de très grande fréquence et de forte amplitude, décrites à propos du lindane.

Avec le D.D.T. (fig. 5) les oscillations du galvanomètre conser-

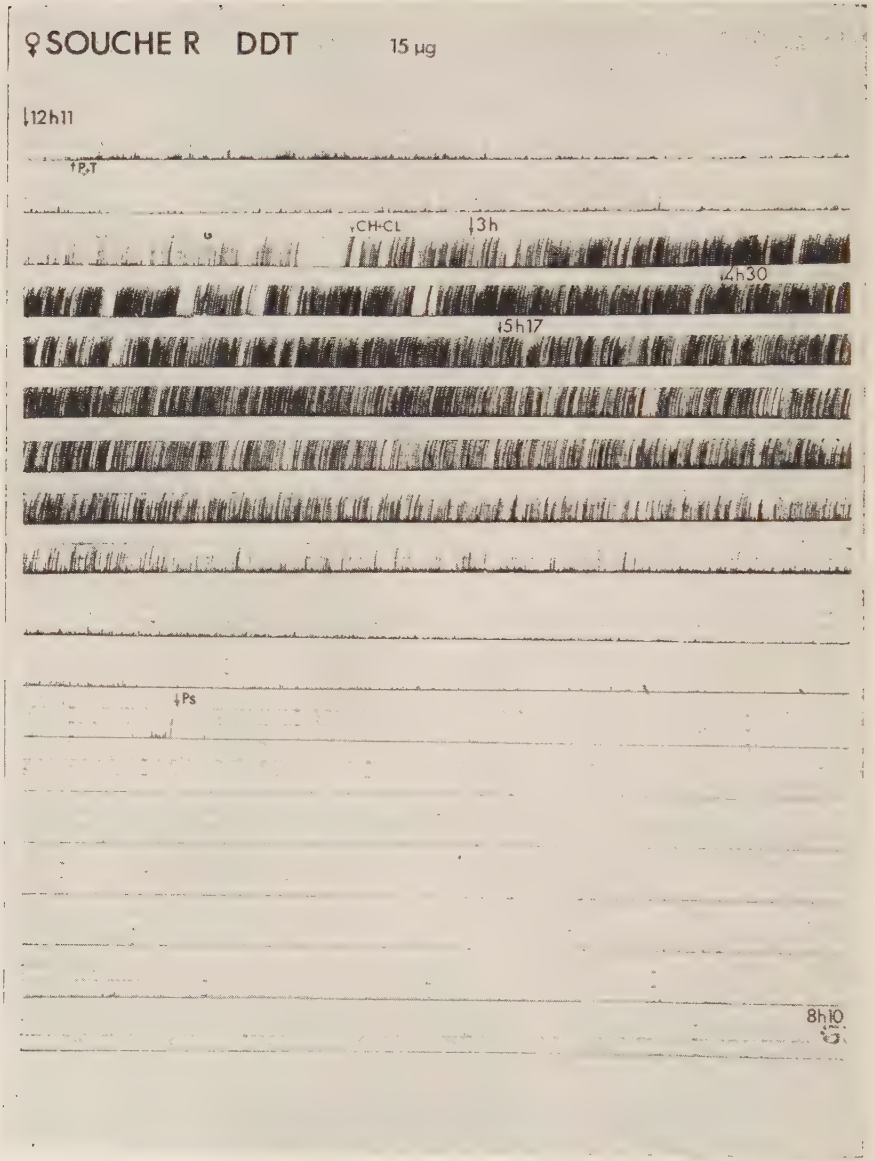


FIG. 5. — Actogramme d'une mouche domestique de souche résistante au lindane R (I.N.A.), intoxiquée par 15 µg de D.D.T., en application topique. La comparaison avec la figure 4 montre qu'ici les phases choreo-ataxique et clonique (*Ch* + CL) ne sont pas distincts, en raison de l'absence des vibrations alaires, caractéristiques de la phase choreo-ataxique dans le cas d'intoxication au lindane.

vent une forte amplitude pendant tout le stade clonique (pendant près d'une heure pour des doses qui provoquent la mort en 10 h environ). Mais la plume du galvanomètre ne reste pas bloquée dans la zone d'amplitude maxima, comme à l'occasion des vibrations alaires observées dans le cas du lindane. A ces oscillations de fréquence élevée se superpose cependant un train de vibrations de faible amplitude, mais de plus grande fréquence. Ces dernières vont d'ailleurs se manifester de mieux en mieux au fur et à mesure que l'intensité des grandes oscillations diminue. Elles se traduisent par un noircissement particulier d'une bande étroite au niveau du point zéro de la plume. La paralysie, dernière phase de l'intoxication s'installe peu à peu : disparition des oscillations de grande amplitude, atténuation progressive des vibrations de faible amplitude (*Ps*, fig. 5).

3° *Symptomatologie de l'intoxication par les esters phosphoriques.*

Les esters phosphoriques (de même que les narcotiques) présentent des symptômes d'intoxication qui rappellent ceux causés par le lindane. Busvine (1964) en a conclu que les aspects cliniques de l'intoxication limitent les conclusions que l'on peut dégager d'une étude du mode d'action des insecticides fondée sur les seuls critères symptomatologiques, puisque l'on observe des symptômes voisins avec des composés ayant un mode d'action assez différent. Mais le procédé actographique nous a permis de valoriser les données que l'on peut dégager de ce type d'investigations, car il conduit à une meilleure définition de ces symptômes, infiniment plus précise en tous cas que les seules observations cliniques.

Non seulement les actogrammes nous permettent de séparer sans aucune confusion possible esters phosphoriques et lindane, quant à leur mode d'action, mais encore ils mettent en évidence des différences entre certains organophosphates, ce qui atteste la haute précision de cette méthode.

On retrouve avec le parathion les cinq phases successives de l'intoxication, décrites à propos du lindane. Cependant, les phases prodromique et typique sont peut-être un peu plus brèves. Le stade choréo-ataxique diffère dans son tracé, des actogrammes obtenus

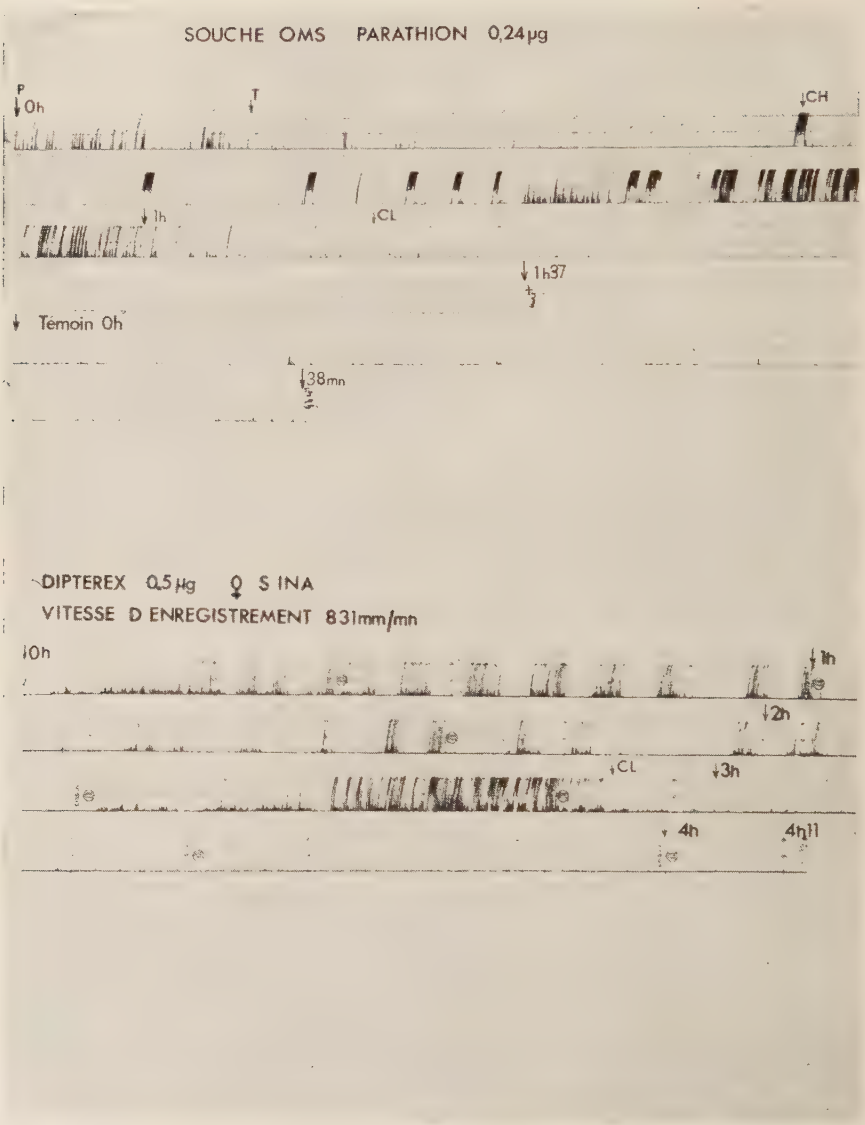


FIG. 6. — Actogrammes de mouches domestiques sensibles intoxiquées au parathion (fig. du haut (souche OMS) et au Dipterex (fig. du bas (souche S-I.N.A.)). Dans le cas du Parathion, apparaissent au début de la phase choréoataxique, des trains d'oscillations de haute fréquence et de forte amplitude, séparés par des intervalles d'activité réduite Avec le Dipterex au contraire, les caractères de l'actogramme sont intermédiaires entre ceux du Parathion et du DDT.

avec le lindane (fig. 6). Les accès de vibrations alaires incoordonnées, effectuées à un rythme très rapide surviennent de façon abrupte, les trains d'oscillations de forte amplitude et à très grande fréquence sont séparés par de nets intervalles de repos et ne sont pas associés à un fond de vibrations désordonnées de faible amplitude et de très haute fréquence, comme dans le cas du lindane et du D.D.T. Vers la fin de la phase choréo-ataxique, ils alternent avec des oscillations assez amples mais de fréquence plus faible, de sorte que le stylet peut revenir en position neutre entre deux vibrations; ce type de tracé n'apparaît que peu de temps avant le « knock-down » pour le lindane.

Il est d'autre part remarquable que ces trains d'oscillations de très grande fréquence, résultant des vibrations alaires choréo-ataxiques, donnent un tracé actographique, analogue aux enregistrements du potentiel d'action des nerfs isolés, traités *in vitro* avec un inhibiteur des cholinestérases.

Dans le cas du Dipterex, l'actogramme présente un aspect de caractère intermédiaire entre le parathion et le D.D.T. Les phases prodromique et typique sont fort brèves et il apparaît rapidement des trains d'oscillations de forte amplitude séparés par des périodes de repos, comme dans le cas du parathion. Mais à l'image des enregistrements obtenus avec le D.D.T. ou le lindane, elles sont de plus faible fréquence et il s'y superpose des trains de vibrations désordonnées, de faible amplitude et de très grande fréquence. Ce caractère intermédiaire de l'actogramme est à rapprocher de la structure chimique du Dipterex; c'est en effet un ester phosphorique renfermant du chlore (Dyméthylphosphate de trichloréthanol). Nous verrons plus loin que le Dipterex n'agit pas de la même façon que le parathion sur les cholinestérases cérébrales.

4° *Symptomatologie de l'intoxication par les Carbamates.*

Le Sevin provoque l'apparition rapide d'une phase choréo-ataxique comparable à celle déterminée par intoxication au lindane. A celle-ci succède une phase clonique fort longue, caractérisée par des oscillations irrégulières de faible amplitude, puis un passage progressif à la tétanisation. On remarque sur la figure 7 que les phases

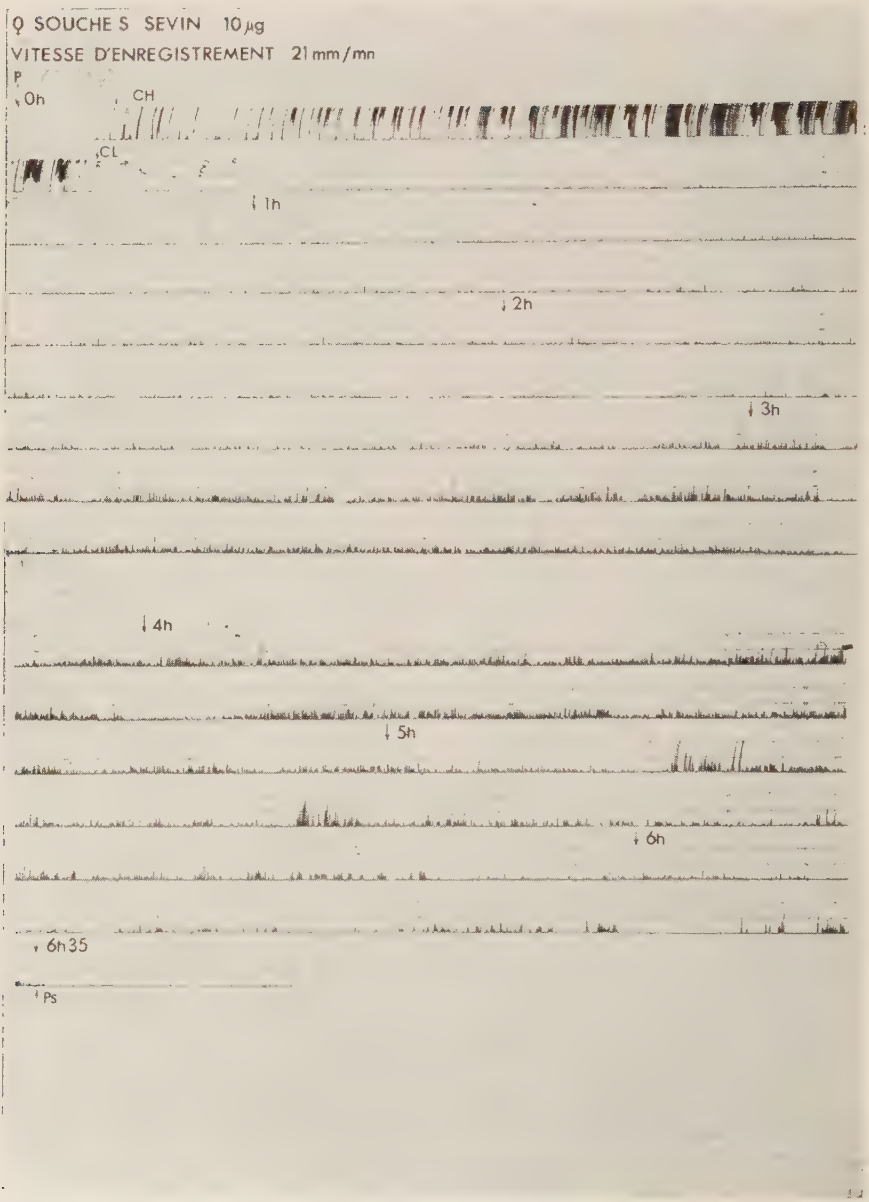

♀ SOUCHE S SEVIN 10 µg
VITESSE D'ENREGISTREMENT 21 mm/mn
P
0h
CH
CL
1h
2h
3h
4h
5h
6h
6h35
Ps

FIG. 7

prodromique et typique sont pratiquement inexistantes et qu'à une brève période choréo-ataxique (de *CH* à *Cl*) ayant duré 25 minutes, a succédé un knock-down de 6 heures.

B. — Troubles physiologiques

L'intoxication des insectes par les insecticides de synthèse provoque de profondes perturbations physiologiques. Celles-ci se traduisent principalement par une perte d'eau intense, résultant d'une défécation et d'une transpiration exagérée, par un accroissement des échanges respiratoires, une déperdition de divers métabolites et surtout par des troubles du système nerveux central et périphérique.

Le dérèglement des processus de régulation de la teneur en eau chez les insectes soumis à un insecticide a été souvent mis en évidence. Il fut signalé la première fois par Roan et ses collaborateurs (1950) chez *Periplaneta americana* intoxiquée au T.E.P.P. La même année, Jover et Brenière observaient une forte perte de poids chez des grillons domestiques intoxiqués au lindane, perte de poids qu'ils croyaient pouvoir rapporter à une déshydratation intense. Ce phénomène fut aussi mis en évidence par Dahm et Kearns (1951) sur des mouches domestiques traitées au D.D.T.

Jochum (1956) a étudié en détail les causes de l'importante perte de poids provoquée par l'intoxication avec le parathion. Celle-ci atteint en 2 heures près de 24 p. 100 du poids corporel total chez le ver à soie et 19 p. 100 en 9 heures chez le doryphore. Il l'attribue principalement à une déperdition d'eau. Jochum a d'ailleurs observé que des larves de la Tenthrède du Pin intoxiquées au Parathion perdaient 32 p. 100 de leur teneur en eau par rapport aux témoins. Il a constaté que les effets de la diurèse et de la transpiration anor-

---

Fig. 7. — Actogramme d'une mouche domestique de souche sensible intoxiquée au Sevin (10 µg). A une brève période d'hyperexcitation apparaissant immédiatement après l'application du toxique succède une longue phase clonique marquée par un regain d'activité de 5 à 8 heures après l'application du poison puis par une tétanisation progressive.

males, dûs à l'intoxication, étaient sensibles non seulement au niveau de l'hémolymphe, mais aussi dans le tissu nerveux, dont la teneur en eau tombe de 75 à 58 p. 100 en 48 heures.

Nous-mêmes avons observé que l'empoisonnement de mouches domestiques avec le lindane provoquait une importante perte de poids, en correlation avec la dose appliquée. Ainsi, nous avons obtenu les résultats suivants, sur des femelles de la souche R âgées de 6 jours.

Dose (en µg)	Mortalité (en 24 h.)	Perte de poids
2	14 %	14,6 %
3	22 %	22,6 %
6	70 %	28,1 %
10	92 %	33,9 %

Pour déterminer dans quelle mesure la perte d'eau intervenait dans la diminution du poids corporel, nous avons placé des mouches dans des boîtes de Petri, renfermant 4 grammes de chlorure de calcium anhydre. Nous avons comparé l'augmentation de poids du $Ca\ Cl_2$ (due à l'absorption d'eau) dans deux lots de mouches, l'un traité avec une dose de lindane qui provoquait 78 p. 100 de mortalité en 24 heures, l'autre servant de témoin. L'augmentation de masse d'une même quantité de $Ca\ Cl_2$ a aussi été déterminée en l'absence d'insecte, dans les mêmes conditions d'ambiance, pour vérifier quelle était la part de l'humidité atmosphérique retenue par le $CaCl^2$.

Nous avons constaté qu'en l'absence de mouches, le poids de $Ca\ Cl_2$ passait de 4 grammes à 4,550 mg après 24 heures. Il convient donc de déduire cet accroissement de poids dû à l'humidité atmosphérique (550 mg), du poids final du $Ca\ Cl_2$ dans les boîtes renfermant les mouches. Comme le montrent les données réunies dans le tableau I, la perte de poids des insectes résulte essentiellement de la déshydratation provoquée par l'empoisonnement (aux erreurs expérimentales près).

On remarque que la perte de poids observée est supérieure aux chiffres donnés à la page précédente. Certains auteurs considèrent que cela serait dû à un accroissement de la déperdition d'eau chez les insectes placés en présence de chlorure de calcium.

L'intoxication par un insecticide stimule intensément les échanges respiratoires. Ainsi, des Blattes traitées au lindane consom-

TABLEAU I

DÉTERMINATION DE LA PERTE D'EAU EN 24 HEURES CHEZ DES MOUCHES DOMESTIQUES INTOXIQUÉES PAR UNE DOSE DE LINDANE AYANT CAUSÉ 78 P. 100 DE MORTALITÉ AU COURS DE CE TEMPS

	POIDS DES 50 ♀	ACCROISSEMENT DE POIDS DU $CaCl^2$ = EAU ABSORBÉE	VALEUR ABSOLUE DE LA PERTE D'EAU DES ♀ EN 24 H	POURCENTAGE DE PERTE D'EAU PAR RAPPORT AU POIDS CORPOREL
Lot I et II 50 ♀ traitées . .	1 173 mg	1 090 mg	540 mg	45,1 %
Lot III et IV 50 ♀ témoin.	1 186 mg	834 mg	274 mg	23,1 %

ment pendant la phase d'hyperexcitation 6 fois plus d'oxygène que les individus témoins. Cette consommation décroît ensuite pendant le knock-down mais demeure encore deux fois supérieure à la normale peu avant la mort apparente (HARVEY et BROWN, 1951). Cet accroissement des échanges respiratoires s'observe aussi avec le D.D.T., les cyclopentadiènes et les esters phosphoriques.

Un des caractères essentiels des altérations biochimiques provoquées par les insecticides réside dans la diminution de la teneur en glucides, en métabolites intermédiaires et en lipides.

DAHM et KEARNS (1951) ont montré que des mouches domestiques intoxiquées au D.D.T. perdaient une grande partie de leurs hexoses et de leur glycogène. O'BRIEN (1957) a fait la même observation avec le malathion.

CLARK et BUTZ (1961) ont observé chez des *B. germanica*, intoxiquées au D.D.T., au dieldrin ou au parathion, une perte de 70 p. 100 des glucides totaux et de 15 p. 100 des lipides, au 3e jour de l'intoxication. D'autres auteurs ont constaté une diminution de la teneur en métabolites intermédiaires du cycle de KREBS (phosphoarginine, acide pyruvique) (1). REIFF (1955, 1956) décrit, chez des mouches domestiques intoxiquées au D.D.T., une augmentation des lipides libres au détriment des lipides masqués. Ce même auteur

(1) Cependant, BEARD (1958) n'observe aucune modification de la teneur en ATP chez des chenilles de *Galleria* traitées au D.D.T.

a aussi montré qu'il se produit une diminution de la teneur en acides aminés libres de l'hémolymphe.

L'empoisonnement par les insecticides de synthèse provoque de nombreuses inhibitions enzymatiques. Morrisson et Brown (1954) ont démontré que la plupart de ces composés, dont le lindane, inhibaient fortement *in vitro* les cytochrome-oxydases. Zakolodkina (1963) a observé que le D.D.T., le lindane et le chlorophos inhibent *in vivo* non seulement les cytochrome-oxydases mais aussi les succino-deshydrogénases, chez *Musca domestica*. En outre, les esters phosphoriques inhibent *in vivo* et *in vitro* les aliestérases et les cholinestérases spécifiques, mais nous reviendrons sur ce point ultérieurement.

L'intoxication par les insecticides organiques altère aussi profondément les fonctions neurohumorales. Certains aspects du syndrome d'empoisonnement (troubles de la régulation hydrique par ex.) suggèrent que l'action sur le système nerveux s'accompagne d'un dérèglement des organes neurosécréteurs, ce qui expliquerait la grande variété des activités biochimiques et physiologiques touchées par ces toxiques, et l'ampleur de ces perturbations.

L'importance des altérations des mécanismes neurohumoraux dans les processus de l'intoxication a été démontrée par la découverte d'agent neuroactif et de neurohormones dans le sang des insectes intoxiqués, ou choqués par des procédés physiques. Sternburg et Kearns (1952) furent les premiers auteurs à donner une démonstration directe de l'apparition de substances neurotoxiques, qui altèrent l'activité spontanée de la chaîne nerveuse ventrale, dans le sang des Blattes intoxiquées au D.D.T. Il s'agissait bien d'un agent toxique différent de l'insecticide car l'injection d'hémolymphe, prélevée sur ces blattes intoxiquées, à des mouches domestiques hautement résistantes au D.D.T., provoquait chez celles-ci les mêmes perturbations nerveuses. Ces auteurs firent la même constatation chez des blattes intoxiquées aux pyréthrines, dont l'hémolymphe devient toxique et induit la paralysie chez des *Sarcophaga*.

Sternburg, Chang et Kearns (1959) ont montré que cette neurotoxine était produite par la chaîne nerveuse ventrale des blattes et constatèrent qu'elle pouvait aussi être libérée par des excitations électriques modérées.

Colhoun (1958, 1959 *a* et *b*) a également remarqué une action stimulante du sang de blattes paralysées au D.D.T. et au T.E.P.P. sur l'activité nerveuse spontanée de la chaîne nerveuse ventrale. L'hémolymphe de ces insectes renfermerait de hautes doses de neurohormones des *corpora cardiaca* et des *corpora allata*. De plus, du sang prélevé sur des insectes intoxiqués, auquel on ajoute un broyat de *corpora cardiaca*, accélère les pulsations aortiques et perturbe l'activité nerveuse d'une chaîne ventrale isolée.

Becht (1958) a constaté que le D.D.T. se comporte d'abord comme un stimulant puis comme un dépresseur de l'activité nerveuse spontanée des organes sensoriels chordotonaux des blattes. Le lindane serait sans action.

La libération de neurohormones à des taux anormaux dans des organismes intoxiqués n'est d'ailleurs pas un phénomène étonnant. On sait depuis longtemps que des agressions physiques ou des états traumatisants causés par une hyperagitation, des chocs électriques ou une diète hydrique provoquent chez les vertébrés une émission intense de neurosécrétions (cf. par exemple les travaux de Gerschenfeld et coll. sur les effets de la déshydratation chronique au niveau des cellules neurosécrétrices de l'hypothalamus, 1960). Chez les insectes, quelques observations ont été faites en ce sens. Ainsi, Hodgson et Geldiay (1959) ont constaté que des *Periplaneta americana* soumises à des stimulations électriques répétées présentent une forte diminution de colorabilité de leur *corpora cardiaca* à la PAF et au Gomori. Plus récemment plusieurs auteurs ont observé des effets semblables dans la *pars intercerebralis* ou dans les cellules neurosécrétrices des ganglions de la chaîne nerveuse ventrale d'insectes élevés en atmosphère sèche. Ainsi, M. Raabe (1966) observe une forte diminution du nombre de granules contenus dans les cellules A des ganglions ventraux de Phasmes vivants en atmosphère humide transférés subitement en milieu très sec.

L'intoxication par les insecticides perturbe certainement les mécanismes hormonaux des insectes. Les faibles concentrations de toxique possèderaient selon les recherches neurophysiologiques effectuées jusqu'à présent un effet stimulant, alors que les fortes doses inhibent l'activité nerveuse. Les neurosécrétions intervenant dans le syndrome d'empoisonnement semblent provenir de la chaîne nerveuse ventrale et des *corpora cardiaca*, cependant nos propres recherches cytophysiologiques suggèrent aussi une action de l'insecticide sur les neurosécrétions de la *pars intercerebralis*. Nous décrirons en détail ces travaux dans le chapitre suivant.

II. — HISTOPATHOLOGIE ET CYTOPATHOLOGIE DES INSECTES INTOXIQUÉS AVEC DU LINDANE OU AVEC CERTAINS PHOSPHATES ORGANIQUES

L'étude des lésions histologiques et cytologiques causées par les insecticides de contact est encore peu avancée, car la plupart des recherches sur le mode d'action de ces substances, mettant en évidence des inhibitions enzymatiques, ont été réalisées *in vitro*. Si l'on peut en déduire le site possible de l'action du toxique, il convient cependant de le confirmer ou de le préciser par des méthodes plus directes et par des preuves plus formelles. Aussi, certains auteurs se sont-ils attachés depuis une vingtaine d'années à mettre en évidence les altérations histologiques de divers tissus, surtout du système nerveux, lequel semble être le site d'action privilégié des insecticides de contact. Mais, ces observations, effectuées jusqu'ici en microscopie photonique, ne peuvent être d'un grand secours, sauf pour les détections d'activités histoenzymologiques, et ne peuvent révéler que des altérations très avancées, souvent *pre mortem*. Au contraire, la microscopie électronique combinée à l'usage des techniques enzymologiques et cytochimiques, permettra certainement de découvrir les sites d'action réels et les véritables altérations primaires causés par le toxique.

A. — Rappel des principales données acquises

1° *Lésions du système nerveux.*

On connaît depuis fort longtemps certaines lésions du système nerveux central des insectes résultant d'un empoisonnement par les insecticides. Wilcoxon et Hartzell signalent dès 1933 une vacuolisation du cerveau et des ganglions nerveux de *Tenebrio molitor*, 16 heures après le début d'une intoxication par les pyréthrines. Avec ces mêmes composés, Wigglesworth (1941) a observé une tigrolyse des neurones et l'apparition de vacuoles entre les fibres nerveuses, dans les ganglions thoraciques de *Cimex lectularius* et de

Rhodnius prolixus. Hartzell et Scudder (1942) ont décrit chez des mouches domestiques traitées aux pyréthrines et en phase knock-down depuis 4 heures, une pycnose des neurones cérébraux avec apparition d'une vacuole hyaline entourant le noyau, lequel paraît se rétrécir et diminuer de volume. Hartzell (1945) a constaté chez ce même insecte, paralysé par les pyréthrines, une pycnose nucléaire complète, accompagnée d'une disparition des corps de Nissl et d'une dissociation des fibres nerveuses.

Le D.D.T. ne produit aucune action apparente sur les ganglions nerveux bien que Chang (1951) ait décrit une fragmentation des dictyosomes dans les neurones des ganglions thoraciques de *Periplaneta americana* intoxiquée par cette substance. Par contre, le lindane et les composés qui lui sont apparentés ainsi que les esters phosphoriques, provoquent de profondes lésions du système nerveux central.

Srivastava (1951) a remarqué une accumulation de gouttelettes lipidiques libres dans les ganglions nerveux mésothoraciques de *Blatella germanica* intoxiqués au lindane. Hopp (1953), étudiant l'action de cet insecticide sur *Pediculus capitis*, a observé dans les neurones une pycnose nucléaire accompagnée de tigrolyse.

Luers et Kopf (1953), Roche et Lhoste (1958), ont aussi remarqué, après empoisonnement au parathion de *Drosophila melanogaster*, une tigrolyse et une hyperchromatose des cellules nerveuses. Roche et Lhoste (1958) décrivent en outre des lésions identiques dans les neurones des ganglions thoraciques de *Blatella germanica* traitées à l'aldrin, à l'endrin, au chlordane et au parathion.

Luers et Kopf (1955) ont étudié en détail les modifications de la basophilie cytoplasmique, dans les neurones moteurs du ganglion thoracique de *Musca domestica* et de *Drosophila melanogaster* sous l'effet du lindane. Ces auteurs ont surtout fait appel à la technique de Pischinger et à l'emploi du Bleu de crésyle, pour mettre en évidence les ribonucléines cytoplasmiques et les corps de Nissl. Ils concluent que l'empoisonnement par le lindane provoque deux types d'altérations : le noyau de certains neurones semble se gonfler tandis que les corps de Nissl disparaissent et que l'ensemble du cytoplasme perd sa colorabilité; d'autres neurones montrent au contraire un rétrécissement nucléaire et une modification d'affinités tincto-

riales, l'ensemble du cytoplasme prenant les colorants basiques de façon intense et homogène.

Lhoste et Roche (1956) ont décrit dans les ganglions cérébroïdes de *Blabera fusca* intoxiquée par l'heptachlore, des altérations des noyaux des *globuli*, dont les fibres constituent une partie des *corpora pedunculata*. Il se produit une diminution du volume nucléaire et une hyperchromatose après réaction de Feulgen, qu'ils attribuent à la condensation de la chromatine. Cependant, certains noyaux paraissent indemnes et d'autres présentent une dégénérescence totale de la chromatine. Par ailleurs, ces auteurs écrivent que les cellules neurosécrétrices de la *pars intercerebralis* et des *corpora cardiaca*, n'ont montré aucune modification consécutive à l'empoisonnement.

L'action du parathion a aussi été étudiée par Pistor (1954) sur le système nerveux de *Calliphora erythrocephala* et par Jochum (1956) sur le ganglion thoracique du ver à soie. Ce dernier a recherché des lésions à des stades plus précoces de l'intoxication, les auteurs ayant jusqu'alors essentiellement étudié des insectes paralysés depuis plusieurs heures.

Jochum a constaté l'apparition de diverses lésions des neurones dès le stade d'hyperexcitation des chenilles. Il a observé qu'à la fin de cette phase, les grands neurones se colorent de façon anormale. Après passage des coupes à la gallocyanine, la basophilie du cytoplasme n'apparaît pas homogène comme dans les préparations témoins. Une zone périnucléaire très chromophile s'oppose au reste du cytoplasme qui paraît chromophobe. De plus, les noyaux paraissent gonflés et de couleur pâle. Au dernier stade de l'empoisonnement certains d'entre eux se pycnosent et les cytoplasmes présentent une basophilie très intense mais homogène.

Moussa et Banhawy (1959) ont étudié l'action du lindane sur les neurones des ganglions thoraciques de *Schistocerca gregaria*. Ils ont décrit une diminution de taille du perikaryon des neurones au stade de « knock-down » et même une disparition totale du golgi dans les cerveaux prélevés peu avant la mort des insectes.

Nous considérons que de telles études des altérations golgiennes, réalisées selon les techniques d'imprégnation ne peuvent pas conduire à des résultats concluants. Nos observations sur les neurones céré-

braux de *Musca domestica* nous ont montré que la technique de Nassonov-Kolatchev donnait des images fort variables d'une préparation à l'autre. Les études cytopathologiques du golgi doivent être réalisées en microscopie électronique.

On pourrait se demander quel est le sens exact des modifications histopathologiques et cytopathologiques mises en évidence par les techniques de la microscopie ordinaire. Richards et Cutkomp (1945) attribuaient déjà les lésions observées après intoxication aux pyréthrines à l'anoxie et à l'autolyse et considéraient qu'elles étaient plus un effet secondaire que la cause essentielle de la paralysie finale. Il est frappant de constater que les altérations des noyaux et des ribonucléines cytoplasmiques, plus particulièrement des corps de Nissl, ont toujours été faites sur des ganglions nerveux prélevés sur des individus à un stade avancé de l'intoxication : paralysie ou mort apparente. Il s'agit selon toute vraisemblance de lésions secondaires, sinon d'altérations *pre mortem* causées par l'autolyse tissulaire. Roche et Lhoste (1958) concluent aussi que les modifications qu'ils ont observées dans les ganglions thoraciques de *Drosophila* et *Blattella* intoxiquées par divers insecticides de synthèse ne correspondent pas à un effet primaire de l'intoxication. Ils attribuent ces altérations à la perturbation neuromusculaire provoquée par l'action de ces toxiques. Il est d'ailleurs bien connu chez les vertébrés que l'excitation intense et forcée d'un neurone moteur provoque une tigrolyse réversible.

2° *Action sur les enzymes respiratoires.*

Zakholodkina (1963) a étudié l'histochimie des enzymes respiratoires (cytochrome-oxydases et succinodeshydrogenases) sur divers tissus de mouches domestiques intoxiquées au D.D.T., au lindane et au dipterex. Morrison et Brown (1954) avaient déjà constaté que l'adjonction *in vitro*, à des broyats de *Musca domestica*, de lindane et de divers chloro-organiques à la concentration de 10^{-3} M, provoquait une forte inhibition des cytochromes-oxydases; le parathion et le malathion induisaient aux mêmes concentrations une diminution d'activité.

Zakholodkina a montré que l'activité des cytochromes-oxy-

dases semblait supérieure *in vivo* chez des mouches de souche sensible que chez celles d'une souche résistante au D.D.T., ce qui s'oppose aux données d'autres auteurs, en particulier de Perry et Sacktor (1955). D'autre part, Zakholodkina a décrit une forte inhibition des cytochromes-oxydases et des succinodeshydrogenases dans le perikaryon des neurones cérébraux, dans les cellules musculaires et dans l'épithélium du mesenteron, chez des mouches intoxiquées au lindane, au D.D.T. et à divers esters phosphoriques.

3° *Action des insecticides sur les autres tissus.*

Certains auteurs ont étudié les lésions histopathologiques causées par les insecticides sur les tissus nucléaire, intestinal et sanguin. De nombreux travaux existent à ce sujet, aussi ne rappellerons-nous que les principaux.

Les premières recherches histopathologiques furent effectuées avec le D.D.T. Hartzell (1945) observait déjà une vacuolisation et une pycnose des cellules musculaires quelques minutes à peine après l'application d'une forte dose de cette substance sur des mouches domestiques.

Avec le système nerveux, c'est le tissu intestinal qui a fait l'objet du plus grand nombre d'investigations. Grandori et Reali (1950) ont décrit des altérations de l'épithélium intestinal, caractérisées par un décollement d'avec la musculature sous-jacente. Salked (1951) a constaté que la membrane péritrophique d'Abeilles intoxiquées au D.D.T. prenait un aspect anormal, tandis que les cellules épithéliales élaboraient une hypersécrétion et se vacuolisaient progressivement. Hopp (1953) a observé cette vacuolisation, non seulement dans l'épithélium du mésenteron, mais aussi dans les cellules malpighiennes, dans l'épiderme et dans les leucocytes, chez des *Pediculus capitis* intoxiqués au D.D.T.

Jochum (1956) a décrit des lésions dans les glandes salivaires labiales de mouches domestiques étudiées au stade « knock-down » après contact avec du parathion. Le noyau des cellules glandulaires se déforme, prend des contours irréguliers, sa chromatine devient croûteleuse et le cytoplasme qui se colore normalement de façon homogène, prend un aspect hétérogène, les vacuoles de sécrétions

se colorant fortement. Ce même auteur a aussi observé que le parathion modifiait l'épithélium du mesenteron chez *Periplaneta*, provoquant une chromophobie cellulaire accompagnée d'une augmentation du volume nucléaire. De plus, la bordure en brosse s'épaissit et de nombreuses vésicules apparaissent à sa surface. Il en est de même au niveau du plateau strié de l'épithélium malpighien. De telles altérations des cellules intestinales ont été à nouveau décrites plus récemment par Srivastava (1962) après action du lindane et du chlordane sur divers Orthoptères.

Bacetti (1962) a étudié l'action du Sevin sur l'épithélium intestinal du criquet *Aiolopus strepens*. Selon cet auteur, les modifications ultrastructurales seraient inexistantes pendant les 4 à 5 premières heures de l'intoxication. Toutefois, il apparaît des lacunes dans les membranes des cellules épithéliales, dont le cytoplasme est ainsi en communication, et une sensible dilatation des citernae golgiennes. Chez les insectes proches de la mort apparente (après 10 h d'intoxication), il se produit une dissolution des crêtes mitochondriales et de nombreuses pycnoses.

L'intoxication par les insecticides de contact provoque aussi de nettes altérations cytologiques des cellules sanguines. Certaines de ces altérations paraissent résulter de la perte d'eau qui induit une concentration du plasma, d'autres proviennent sans doute d'une action directe sur les leucocytes. Arvy, Gabe et Lhoste (1950) ont décrit les modifications provoquées par le D.D.T. et l'H.C.H. dans le sang du Doryphore. Ces auteurs ont observé une augmentation en valeur absolue du nombre de leucocytes, une déviation de la formule sanguine par réduction du nombre de plasmocytes ainsi que l'apparition de lésions nucléaires suivies d'une lyse cellulaire par éclatement des membranes plasmatiques. Coupin (1953) arrive aux mêmes conclusions chez le grillon domestique intoxiqué au parathion, Trehan et Pajni (1961) ont aussi constaté une déviation de la formule leucocytaire après empoisonnement à l'endrin.

B. — Recherches personnelles sur l'histopathologie de la mouche domestique a la suite d'intoxication par le lindane et certains esters phosphoriques

1° *Lésions du système nerveux en histologie classique.*

Nos recherches sur les altérations causées dans le cerveau de *Musca domestica* par l'intoxication au lindane nous ont permis de retrouver les lésions des axones et des neurones décrites par d'autres auteurs et de préciser certains aspects pathologiques.

A partir du stade « knock-down » apparaissent des altérations dans les neuropiles et dans le cortex cérébral. Elles consistent en une vacuolisation des masses fibreuses, particulièrement nette au niveau des glomérules (corps central par exemple) et en une dissociation des axones (cf. Pl .I, fig. *B*, *C*). Les noyaux des neurones semblent se gonfler et ils réagissent plus faiblement au Feulgen que chez les individus témoins. En particulier, les noyaux des *globuli* et des petits neurones du protocerebron, habituellement très colorables après réaction de Feulgen, paraissent nettement plus pâles. Mais ce n'est qu'au stade de la paralysie que l'on peut observer d'importantes altérations cellulaires. Les noyaux des neurones prennent alors des contours irréguliers, leur membrane se plisse (fig. 8 *B*), certains même se pycnosent; leur volume diminue et ils deviennent fortement Feulgen positifs (fig. 8 *B*, *g* et *n*). Toutefois, les noyaux des cellules neurosécrétrices et des neurones géants de la *pars intercerebralis* augmentent au contraire de volume et deviennent presque entièrement chromophobes.

Fig. 8. — *Pars intercerebralis* de mouche domestique normale (*A*) et d'une autre femelle de même âge paralysée par intoxication au lindane (B). Fixation au Champy, réaction de Feulgen, contre-coloration au Picro-indigo-carmin. On remarque un gonflement et une vacuolisation cytoplasmique dans les cellules neurosecrétrices (*CNS*) et les neurones géants (*NG*) du cerveau intoxiqué. Les noyaux de ces cellules semblent augmenter de volume et sont peu colorés. Au contraire les noyaux des petits neurones (*n*) et des globuli (*g*) se contractent et deviennent fortement Feulgen positifs. *CNS*, cellules neurosecrétrices; *g*), globuli; *G*, gliocytes géants de Grandori et Caré; *n*, petits neurones protocérébraux; *NG*, neurones géants; *Nl*, lame neurale; gliocytes; *v*, vacuoles hyalines; *tr*, trachées.

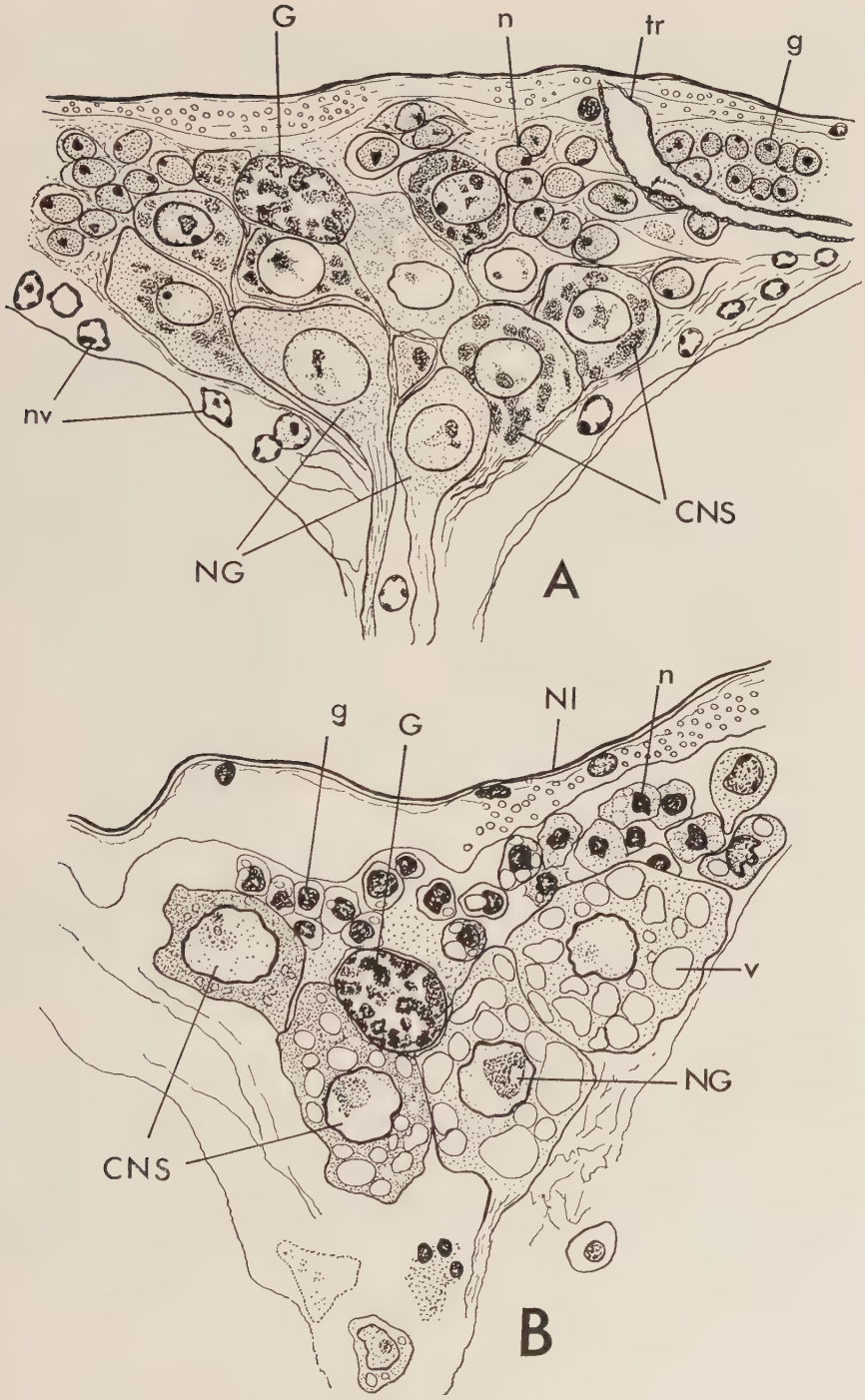


Fig. 8

Le cytoplasme de toutes les cellules cérébrales (gliocytes et neurones) se distend, se vésiculise et semble envahi par de nombreuses vacuoles hyalines qui atteignent une grande taille dans les neurones géants de la *pars intercerebralis* (fig. 8 *B*, *NG*).

Nous observons aussi une profonde modification de la basophilie cytoplasmique, au cours de l'intoxication. Les corps de Nissl, qui normalement se présentent dans les neurones des insectes sous

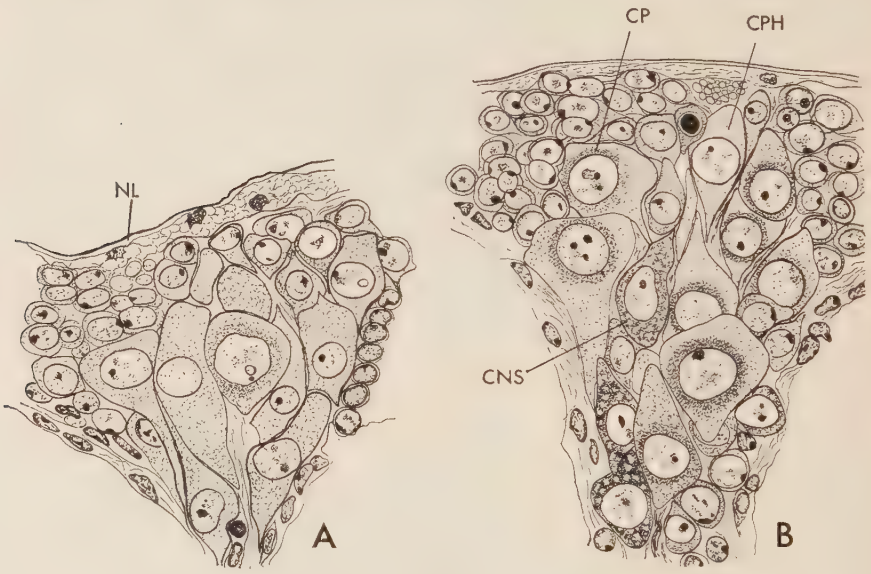


Fig. 9. — *Pars intercerebralis* de *Musca domestica* après coloration à la gallocyanine. *A*, témoin non traité; *B*, mouche knock-down après intoxication au lindane. En *B*, les noyaux des neurones paraissent « gonflés », une zone de cytoplasme chromophile s'est individualisée autour de la plupart d'entre eux (*CPC*); certaines cellules neurosecrétrices présentent une tigrolyse, accompagnée d'une chromophilie intense et homogène (*CNS*); d'autres neurones deviennent chromophobes (*CPH*).

l'aspect de nombreux petits granules fortement basophiles, disparaissent dès le « knock-down » (tigrolyse). L'altération la plus fréquente consiste dans l'apparition d'un anneau cytoplasmique intensément colorable à la gallocyanine et au bleu de toluidine tamponné, qui contraste avec le périplasme chromophobe (fig. 9). Certains perikaryons deviennent très peu colorables et ceux des cellules neurosécrétrices conservent une chromophilie intense et homogène

dans la plupart des cas après disparition des corps de Nissl. A la différence des observations de Lhoste et Roche (1956) certaines modifications apparaissent dans les cellules neurosécrétrices de la *pars intercerebralis* de mouches « knock-down » ou paralysées depuis plusieurs heures.

L'étude de la *pars intercerebralis* après fixation au Helly et coloration à la fuschine paraldéhyde ou à l'hématoxyline chromique-phloxine, nous a montré qu'on y rencontre un nombre constant de cellules neurosécrétrices (une trentaine). Certaines appartiendraient au groupe A car elles se colorent en violet pourpre avec la fuchsine paraldéhyde et en bleu sombre avec l'hématoxyline chromique. Cependant, on peut en distinguer deux types, qui ne présentent pas une localisation topographique distincte. Certaines cellules neuro-sécrétrices ont un noyau subsphérique et renferment des grains de neurosécrétions bien distincts, se colorant en violet pâle par la fuchsine paraldéhyde (type que nous désignerons arbitrairement par PF +). Les autres, plus petites, ont un noyau ovalaire et sont plus riches en neurosécrétions, lesquelles forment dans le cytoplasme de grandes flaques, aux contours peu réguliers, se colorant en violet sombre par la fuchsine paraldéhyde (type PF ++). Thomsen (1965) a observé chez *Calliphora erythrocephala* des types cellulaires présentant des mêmes critères de colorabilité et pose le problème de la filiation entre ces deux catégories.

Après 24 heures d'intoxication aiguë au lindane, nous constatons, aussi bien chez les individus paralysés que chez ceux ayant survécu mais présentant des séquelles de l'empoisonnement (pattes postérieures paralysées, par exemple), des modifications sensibles de colorabilité de la *pars intercerebralis*. Nous constatons que les deux catégories cellulaires décrites ci-dessus se colorent de façon plus intense que chez le témoin : les cytoplasmes prennent plus intensément la fuchsine paraldéhyde et les flaques de neurosécrétions paraissent empâtées, avec des limites moins nettes que chez les individus normaux. (Pl. II, fig. *A*, *B*, *C*).

Une autre transformation remarquable provoquée par le lindane est apparente chez les mouches ayant survécu à une intoxication aiguë, ou intoxiquées par plusieurs applications de doses plus faibles, de l'ordre de la DL 50, appliquées 12 à 24 heures après leur sortie

du puparium. Si l'on prélève les cerveaux chez de telles mouches à l'âge de 3 ou 5 jours, on constate que le nombre de cellules neurosécrétrices de type PF ++ est nettement plus élevé (cf. tabl. II). Ainsi, chez des adultes âgés de 3 jours, nous trouvons 11 cellules neurosécrétrices de type PF ++ et 17 PF + chez les individus intoxiqués contre 7 PF + et 22 PF ++ chez les témoins de même âge.

TABLEAU II

COMPARAISON DU NOMBRE DE CELLULES NEUROSÉCRÉTRICES DE TYPE PF + ET PF ++ DANS LA *pars intercerebralis*, CHEZ DES INDIVIDUS TRAITÉS AU LINDANE PEU APRÈS LEUR SORTIE DU PUPARIUM ET CHEZ DES TÉMOINS DU MÊME AGE (1)

Nombre de cellules / Type	Mouches agées de 3 jours			
	Individus intoxiqués		Témoins	
	Moyenne	Extrêmes	Moyenne	Extrêmes
PF +	17	18-14	22	21-24
PF ++	11	10-13	7	6-8
Nombre de cellules / Type	**Mouches agées de 5 jours**			
	Individus intoxiqués		Témoins	
	Moyenne	Extrêmes	Moyenne	Extrêmes
PF +	18	17-19	20	19-21
PF ++	10	8-12	8	7-9

La plupart des auteurs estiment actuellement, à la suite des travaux de HIGHNAM (1961), que les cellules neurosécrétrices renfermant peu de matériel colorable et un noyau de grande taille sont en activité sécrétoire intense, tandis que celles dont le cytoplasme est rempli de flaques de neurosécrétions sont inactives. Le contenu d'une cellule neurosécrétrice est en quelque sorte le résultat d'un équilibre entre les phénomènes d'élaboration et de libération des produits synthétisés. Comme le font justement remarquer HSIAO et FRAENKEL (1966), les mouches jeunes, dont la *pars intercerebralis* secrète

(1) Les moyennes figurant dans ce tableau ont été établies d'après des comptages effectués sur 4 à 7 cerveaux.

de nombreuses neurohormones, présentent des cellules neurosécrétrices peu colorables alors que les individus âgés, dont l'activité physiologique est réduite, renferment dans leurs *pars intercerebralis* un nombre important de cellules neurosécrétrices fortement colorables.

Les images que nous observons dans le cerveau de mouches intoxiquées au lindane, après réaction à la fuchsine paraldéhyde, traduisent vraisemblablement un blocage des cellules neurosécrétrices sous l'influence du toxique. L'augmentation du nombre de cellules PF + + donne à la *pars intercerebralis* des jeunes individus intoxiqués, l'aspect du cerveau d'individus normaux âgés de plus de 10 jours.

Cet accroissement du nombre de cellules neurosécrétrices à petit noyau fortement colorable a été observé par Thomsen (1965) chez des *Calliphora* nourries uniquement d'eau et de sucre (sans protéines). Dans ces conditions, cet auteur observe que la *pars intercerebralis* de ces individus présente à l'âge de 6 jours l'aspect qu'elle aurait chez des mouches normales beaucoup plus âgées (c'est-à-dire un grand nombre de cellules à petit noyau et très fortement colorables à la fuchsine paraldéhyde). Par ailleurs, les ovaires de telles mouches n'arrivent pas à maturité. Or, nous arrivons aux mêmes conclusions chez les *Musca domestica* intoxiquées chroniquement au lindane. Cette augmentation du nombre de cellules PF + + (très vraisemblablement inactives), au détriment des cellules PF + (actives), s'accompagne d'un retard considérable dans la vitellogénèse (1) et même d'une stérilisation progressive des femelles chez les individus traités à des doses supérieures à la DL 50 (Pl III, fig. *A* à *D*). Remarquons enfin que nos observations apporteraient un argument favorable à l'hypothèse d'une filiation entre ces deux catégories de cellules neurosécrétrices.

2° *Altérations au niveau des ultrastructures des cellules nerveuses.*

L'étude des altérations provoquées par les insecticides au niveau des ultrastructures des cellules nerveuses s'impose, si l'on veut déceler les lésions primaires que provoquent ces substances. Seule,

(1) Cf. chapitre suivant.

la microscopie électronique permet d'envisager de telles investigations. Il n'existe jusqu'à présent, à notre connaissance, qu'une seule tentative antérieure ayant eu pour objet de mettre en évidence l'existence d'altérations ultrastructurales, mais elle s'est soldée par un échec : Baccetti et Mellis (1961) ont étudié en microscopie électronique le ganglion thoracique de *Dacus oleae* (Diptère Trypétide) intoxiqué au malathion. Mais en raison d'une fixation insuffisante de leur matériel, ces auteurs n'ont pu aboutir à des conclusions valables, ne décelant en fait aucune lésion ultrastructurale.

Nous avons étudié l'action du lindane sur le système nerveux central de femelles de la souche OMS ayant reçu en application topique, au niveau du thorax, une microgoutte contenant 0,06 µg de toxique. Nous avons prélevé les cerveaux à la fin de la période d'hyperexcitation (fin de la phase choreo-ataxique ou début de la phase clonique) et au cours de la phase de paralysie (après 20 h d'empoisonnement).

La fixation a été réalisée au Palade (tampon véronal) et au Millonig (tampon phosphate) à pH 7,4. Les cerveaux furent ensuite inclus à l'Araldite ou à l'Epon. Les coupes ont été réalisées avec l'ultramicrotome Reichert OMU I et OMU II. Nous avons utilisé pour renforcer les contrastes, l'acétate d'Urane, et le Citrate de Plomb (selon Reynolds); les deux colorations furent combinées dans certains cas et donnèrent d'excellents résultats. Tous les clichés que nous publions ont été réalisés au microscope électronique Hitachi HS 7. L'ultrastructure des cerveaux intoxiqués a été comparée à celle de témoins de la même souche, préparés de façon identique. Nos résultats ont été partiellement décrits dans une note préliminaire (F. Ramade, 1966).

Dans les ganglions cérébroïdes fixés à la fin de la phase choréo-ataxique, apparaissent déjà des modifications ultrastructurales. Celles-ci sont manifestées au niveau des mitochondries des neurones et dans les cellules neurosécrétrices de la *pars intercerebralis*.

Le chondriome constitue certainement un site privilégié de l'action toxique, et présente une grande sensibilité aux agents traumatisants. Les mitochondries présentent dès le stade choréo-ataxique un aspect gonflé. Leur volume s'accroît beaucoup tandis que leurs *cristae*, très serrées et peu distinctes dans les neurones

normaux, deviennent très apparentes et semblent s'écarter les unes des autres. Cette vésiculisation des mitochondries apparaît aussi bien dans le périkaryon des neurones que dans les axones (Pl. VII, IX, XI).

On observe aussi à la fin du stade choréo-ataxique et chez des insectes ayant atteint le knock-down mais ayant récupéré après une vingtaine d'heures d'intoxication, des transformations assez importantes dans le cytoplasme des cellules neurosécrétrices de la *pars intercerebralis*. Les granules élémentaires de neurosécrétion, dont la taille moyenne est comprise entre 1 500 et 2 500 Å semblent fusionner pour donner des grains de taille anormalement grande (jusqu'à 5 000 Å) (Pl. VI, *B* et VII, fig. *A*). Les corps denses de type lysosome paraissent plus nombreux que dans les neurones normaux.

Les cerveaux prélevés sur des mouches en phase « knock-down » depuis plusieurs heures, présentent des altérations plus variées et plus importantes. La dissociation des *cristae* mitochondriales est générale dans tous les neurones. Chez certains d'entre eux les mitochondries deviennent si volumineuses qu'elles occupent la majeure partie du cytoplasme qui semble lui-même augmenter de volume (Pl. IX, fig. *B*). L'appareil de Golgi montre aussi des signes d'altérations. Les dictyosomes se vacuolisent; leurs saccules qui normalement sont empilées régulièrement et d'épaisseur constante prennent des contours irréguliers, se vésiculisent et même se fragmentent (g, fig. *B*, Pl. IX). Les *cisternae* ergastoplasmiques, régulièrement réparties dans le cytoplasme des neurones normaux ou disposées parallèlement dans certaines cellules neurosécrétrices (fig. *A*, Pl. VIII) prennent dans les cerveaux intoxiqués l'aspect d'amas hétérogènes. Elles se rassemblent au voisinage du noyau des cellules neurosécrétrices où elles forment d'immenses spires (Pl. VIII), fig. *B*). Cet aspect peut expliquer pourquoi l'on observe, en microscopie ordinaire (fig. 9), des zones périnucléaires prenant de façon intense les colorants basophiles, dans les cellules nerveuses d'insectes empoisonnés avec divers insecticides de synthèse.

On remarque en outre, chez des mouches « knock-down » depuis plusieurs heures, que le perikaryon des cellules neurosécrétrices de la *pars intercerebralis* renferme de moins en moins de granules élémentaires de neurosécrétion (Pl. VII, fig. *A* et *B*); le contenu de

ces derniers semble d'ailleurs se vider, de sorte qu'il n'en subsiste plus que le cortex. Finalement, sur des individus paralysés depuis plusieurs heures, les cellules neurosécrétrices sont totalement dépourvues des granulations osmiophiles de neurosécrétion (Pl. VIII, fig. *B*).

Il est étonnant de constater qu'en microscopie ordinaire, des cerveaux provenant d'individus paralysés depuis plusieurs heures, présentent au contraire toujours une colorabilité intense de leurs cellules neurosécrétrices à la fuchsine paraldéhyde. On peut donc se demander, si ce colorant, de même que le réactif de Gomori, ne colore point des substances associées aux granules de neurosécrétions, plutôt que les granules eux-mêmes. Rappelons à ce propos,que les *corpora allata* et les organes neutrohémaux (1) qui renferment d'abondantes neurosécrétions, ne prennent aucun des réactifs classiques de ces substances, en histologie normale. Cependant, cette disparition des granules élémentaires ne signifie pas nécessairement que ceux-ci ont été émis hors de la cellule et nous avons même de bonnes raisons de penser qu'elle correspond plutôt à un blocage des substances neurosécrétées, dans le perikaryon.

Un autre type d'altération se situe au niveau des corps denses de type lysosome. Ces éléments, fréquents, dans les neurones normaux, possèdent une structure hétérogène. Ils comportent un ensemble de membranes plissées, disposées de façon concentrique, selon un arrangement pseudomyélinique, et d'autres inclusions très polymorphes (Pl. IX, fig. *B* et *X* fig. *A*). Ces corps denses disparaissent progressivement, au fur et à mesure que s'aggrave l'intoxication, tandis qu'augmente simultanément le nombre de corps multivésiculaires. Ces derniers qui appartiennent aussi au groupe des lysosomes (fig. *A*, *B*, Pl. VII) comportent une simple membrane entourant de nombreuses petites vésicules osmiophobes, qui ressemblent un peu aux vésicules golgiennes. Il existe en outre des aspects intermédiaires entre les corps denses de type lysosome et les corps multivésiculaires, ce qui suggère une transformation possible entre

(1) M. Raabe (1965) a mis en évidence chez les phasmides, des organes périsympathiques, de signification neurohémale, qui réagissent négativement aux colorations de Gomori. Leur étude en microscopie électronique (Raabe et Ramade, 1967) a cependant montré qu'ils renferment de nombreuses terminaisons axoniques bourrées de granules élémentaires de neurosécrétion. Au contraire, les cellules des *corpora allata* sont dépourvues de tels grains denses (cf. p.e Scharrer, 1964 ou King, Aggarval et Bodenstein 1966).

ces deux types d'ultrastructures dans les neurones intoxiqués. Enfin, on remarque, dans les neurones de mouches paralysées, que certains corps multivésiculaires semblent se dissocier et libérer leur contenu dans le cytoplasme; celui-ci est à ce niveau dépourvu de structure, ce qui à notre avis témoigne probablement d'une autolyse.

Novickoff et Shin (1964) soulignent que les corps multivésiculaires, ainsi que d'autres types de lysosomes, se rencontrent en grande abondance dans les hépatocytes de rats qui ont reçu dans leurs aliments du diethylamino-benzène, ou qui sont partiellement hépatectomisés. Novickoff a fait la même observation sur des rats ayant reçu du Triton WR 1339 en injection intraveineuse. Ainsi, paraît-il vraisemblable que l'accroissement considérable du nombre de corps multivésiculaires dans les neurones de *Musca domestica* intoxiquée au lindane, soit en relation avec l'autolyse de leur cytoplasme, que traduit en outre la vacuolisation progressive du perikaryon de ces neurones. Nous pensons donc pouvoir identifier ces corps multivésiculaires à des cytolysomes.

Les neuropiles cérébraux présentent aussi de profondes altérations après action du lindane. Certaines sont d'ailleurs observables en microscopie photonique sous l'aspect d'une dissociation des fibres et d'une vacuolisation des espaces interaxoniques dans les centres associatifs du cerveau (Pl. XI, fig. *B*, *C*). La microscopie électronique permet d'observer en détail les modifications ultrastructurales survenant à ce niveau. Alors que les sections transversales d'axones sont régulièrement circulaires ou ovoïdes dans les cerveaux normaux, elles prennent, chez des mouches ayant atteint le stade « knock-down », des contours irréguliers et présentant çà et là des vacuoles.

Une autre altération, non moins importante, déjà vue dans le perikaryon des neurones, consiste en un gonflement et une vacuolisation des mitochondries (Pl XI, fig. *B* et *C*). Les *cristae* de ces dernières deviennent sinueuses et séparées par de larges espaces vides. Enfin, nous avons observé, dans le cerveau des mouches paralysées depuis plusieurs heures, des neurones dont l'aspect était pycnotique (fig. *B*, *C*, Pl. X).

Les altérations ultrastructurales décrites ci-dessus représentent des aspects variés de l'intoxication. Les lésions au niveau des axones,

apparentes dès les phases précoces de l'intoxication, sont vraisemblablement d'ordre primaire. La sensibilité des fibres nerveuses aux agents traumatisants est du reste fort bien connue : ainsi, Melamed et Trujillo-Cenoz (1963) ont montré, chez *Laplatacris* (Orthoptères), que la section d'un connectif de la chaîne nerveuse ventrale provoquait dans les axones, après quelques dizaines de minutes seulement, une augmentation du nombre et de la taille des mitochondries.

Nous considérons que les lésions mitochondriales, observables tant dans les axones que dans les perikaryons à des stades encore peu avancés de l'intoxication, correspondent à une phase primaire de l'action du lindane. Il faut mettre en rapport ces faits avec les inhibitions des cytochrome oxydases et des succino-deshydrogenases, observées par des techniques biochimiques et histo-enzymologiques (Zakholodkina, 1963) car il est bien connu que les mitochondries constituent la principale localisation cytoplasmique de ces enzymes respiratoires. On peut donc conclure que le chondriome des neurones constitue un des sites primaires d'action de divers insecticides et que l'inhibition des systèmes enzymatiques oxydoréducteurs, qui lui sont associés représente une des phases primordiales de l'empoisonnement.

En revanche, les lésions observées au niveau du périkaryon doivent être diversement interprétées. Les modifications des dictyosomes et de l'ergastoplasme correspondent sans doute à des effets secondaires, sinon à des lésions *pre mortem*. Par contre, l'augmentation du nombre de corps denses de type lysosome et la disparition progressive des granules élémentaires de neurosécrétion, qui semblent libérer leur contenu dans le cytoplasme du perikaryon, représenteraient également une des phases primaires de l'intoxication. Nos observations confirment les conclusions auxquelles d'autres auteurs avaient abouti avec des techniques physiologiques. Il y a certainement une corrélation entre la disparition des granules élémentaires de neurosécrétion dans la *pars intercerebralis* et les nombreux troubles physiologiques dépendant de mécanismes neurohumoraux, décrits chez les insectes intoxiqués par divers insecticides de synthèse.

3° *Lésions histo-enzymologiques.*

Nous avons étudié l'action anticholinestérasique de certains esters phosphoriques sur des cerveaux de mouches domestiques prélevés à divers stades de l'intoxication. Ces recherches ayant fait l'objet d'une publication détaillée (F. Ramade, 1965), nous ne ferons que résumer ici nos principaux résultats.

La détection des activités cholinestérasiques a été réalisée selon la méthode de Koelle modifiée par Couteaux (fixation au formol neutre salé, utilisation de l'acéthylthiocholine comme substrat, en milieu tamponné à pH 5,6) (1).

Nous avons déterminé les activités cholinestérasiques de cerveaux prélevés sur des individus à chacun des cinq stades de l'intoxication décrits au chapitre I. L'empoisonnement fût réalisé par diverses doses de Parathion appliquées par microgouttes sur le thorax et comprises entre la DL 50 (0,01 µg / ♀ environ pour la souche OMS) et 1,2 µg / ♀.

Nous avons constaté deux faits importants : quelle que soit la dose utilisée, aucune inhibition cholinestérasique n'est décelable avant le stade choréo-ataxique et le degré d'inhibition observé pour des stades plus avancés de l'intoxication se révèle proportionnel au temps d'action du toxique, sauf pour de très fortes concentrations.

A partir du stade choréo-ataxique apparait une nette diminution de l'activité cholinestérasique (CHE) dans la région protécérébrale du cerveau, qui renferme d'importants centres de coordination motrice, et dans le ganglion sous-œsophagien. A ce stade, l'activité CHE est toujours intense dans les lobes optiques (Pl. XII fig. *B*).

A la fin du stade choréo-ataxique et au début du « knock-down», le ganglion sous-œsophagien et le protocerebron de mouches intoxiquées au parathion présentent une inhibition totale, celle-ci gagne peu à peu au cours du stade clonique l'ensemble des centres cérébraux, à l'exception des medullae externes et internes, lesquelles possèdent encore une activité cholinestérasique (cf. pl. XIII fig. *B*).

(1) Couteaux et Taxi (1951) ont étudié l'influence de divers facteurs sur le milieu d'incubation à l'acétylthiocholine et ont préconisé l'élimination du sulfate de soude concentré. Ils ont de plus substitué au tampon de Sorrensen, à pH 6,4, utilisé par Koelle dans sa méthode originale, le tampon de Walpole à pH 5,6.

Quand la paralysie s'installe, les lobes optiques perdent à leur tour leur activité cholinestérasique, de sorte que l'ensemble du cerveau donne une réaction négative. Avec de fortes concentrations, l'inhibition est totale dès le début du stade clonique.

Le Fenthion (1) exerce des effets anticholinestérasiques comparables à ceux du parathion sur le cerveau de *Musca domestica*. Des mouches intoxiquées par 0,08 µg de Fenthion (souche OMS) atteignent le stade choréo-ataxique après 2 heures d'intoxication et présentent alors une forte inhibition des activités cholinestérasiques dans le protocerebron et le ganglion sous-œsophagien. Cette inhibition s'accentue et devient totale au début du knock-down. A la dose de 1 µg/♀ ce stade est atteint en une heure environ et les cerveaux ne réagissent alors plus du tout sur le substrat.

Même à faible dose, le Fenthion possède une activité comparable à celle du Parathion et inhibe fortement l'hydrolyse de l'acéthylthiocholine et de la butyrylthiocholine par les cholinestérases cérébrales.

Le Dipterex (2) (ou trichlorfon) nous a donné des résultats différents. Nous n'avons jamais observé, avec ce dernier insecticide, de diminution de l'activité cholinestérasique pendant les stades choréoataxiques et cloniques. Seuls, les cerveaux prélevés sur des insectes paralysés par une forte dose de ce composé (2,5 µg/♀) ont montré une certaine diminution d'activité nullement comparable avec l'inhibition totale que provoquent, à ce stade, les deux organophosphates précédents.

Après intoxication au lindane, l'étude de cerveaux prélevés chez des individus « knock-down» ou paralysés depuis plusieurs heures a révélé chez ces derniers une activité cholinestérasique normale ce qui confirme les résultats obtenus *in vitro* par Hartley et Brown (1955). Le lindane est donc un poison ganglionnaire agissant selon un processus indépendant d'une action anticholinestérasique.

En résumé, nos observations sur l'intoxication de *Musca domestica* par le parathion et le Fenthion révèlent que ces insecticides inhibent totalement, au stade «knock-down», l'activité cholinesté-

(1) Thiophosphate de diméthyle-méthyl 3-mercaptométhyl 4-phényle. Cet ester phosphorique est fabriqué par Bayer.
(2) Diméthylphosphate de trichloréthanol.

rasique du cerveau. Cette inhibition s'étend même aux lobes optiques chez les individus parvenus au stade de la paralysie (une à 5 heures après l'application du toxique selon la dose utilisée). En outre, l'ataxie locomotrice et l'agitation incoordonnée des individus, caractéristique de la phase choréoataxique, doivent être mises en rapport avec la diminution d'activité cholinestérasique dans les centres associatifs et de coordination motrice du cerveau : neuropiles, corps central et corps pédonculés.

Ces conclusions confirment les vues de Stegwee (1959 et suivantes), qui attribue un rôle prépondérant à l'inhibition des cholinestérases spécifiques dans l'intoxication des mouches domestiques au TEPP (1), au détriment des aliestérases; elles concordent aussi avec les résultats de Metcalf et March (1949-1950) et de Hartley et Brown (1955) obtenus au moyen de techniques biochimiques. Elles s'opposent par contre à celles de Van Asperen (1960, 1962 et 1964) qui ne voyait qu'une faible inhibition *in vitro* des cholinestérases spécifiques après intoxication aux esters phosphoriques. Il semble en outre que les propriétés anticholinestérasiques des esters phosphoriques ne soient point toujours le facteur essentiel de l'empoisonnement. Il est en effet évident que d'autres processus toxicologiques, encore mal connus, et dépendant des radicaux liés à l'acide phosphorique, interviennent aussi.

Alors que dans le cas du parathion et du fenthion il nous est possible d'affirmer, d'après notre étude histochimique, que leur mode d'action est fondamentalement lié à une inhibition des cholinestérases spécifiques du cerveau, il en est tout autrement avec le dipterex, et selon Molloy (1961), avec le diazinon, cas dans lesquels cette action ne parait pas prédominante (2).

(1) Tetraéthylpyrophosphate.

(2) Cependant Farnham, Gregory et Sawicki (1966), dans un travail sur l'action du diazinon et du diazoxon sur le ganglion thoracique de la mouche domestique, ont mis en évidence une étroite relation entre le degré d'inhibition de ces enzymes et les symptômes extérieurs d'intoxication. De plus, les individus ayant récupéré, mais présentant des séquelles de l'empoisonnement, avaient une activité cholinestérasique plus faible, et localisée à la partie centrale du ganglion thoracique.

III. — PERTURBATION DES FONCTIONS DE REPRODUCTION CHEZ LES MOUCHES DOMESTIQUES INTOXIQUÉES AU LINDANE

La plupart des travaux entrepris sur les problèmes de résistance aux insecticides ont été orientés par l'idée que ce phénomène résulte d'un processus de sélection génétique, la pression sélective étant assurée par l'insecticide lui-même. On s'est donc surtout intéressé à l'action des doses léthales, de sorte que le rôle des faibles doses et leur influence physiologique sur les survivants ont été négligés. Or, il est apparu que l'intoxication avec des doses non léthales perturbe la physiologie de la reproduction des insectes et peut, de ce fait même, interfèrer avec les mécanismes intervenant dans l'apparition des souches résistantes. Avant d'exposer les résultats de nos observations personnelles, nous croyons utile de rappeler brièvement les divers points de vue des auteurs.

A. — Rappel des données antérieures

Il existe plusieurs travaux ayant eu pour but d'évaluer l'action générale des insecticides sur la fécondité de souches résistantes ou sensibles. Les résultats en sont cependant quelque peu contradictoires, certains d'entre eux concluant à un accroissement de la ponte, d'autres, au contraire, à une diminution, à la suite de traitements avec des doses égales ou supérieures à la DL 50.

En réalité, il y a une confusion de terme en ce qui concerne le sens de «doses subléthales ». Certains auteurs désignent par là toute dose à laquelle un insecte a survécu, même s'il s'agit de la DL 95, tandis que d'autres restreignent ce terme aux doses réellement faibles, causant au plus 10 à 15 p. 100 de mortalité dans une population.

Les premières références dont nous disposons au sujet des effets non léthaux des insecticides se rapportent à l'action du D.T.T. sur les pullations d'acariens (Hueck et coll., 1952) : il était apparu que non seulement le D.T.T. s'avèrait peu toxique pour les Tétranyches,

mais encore qu'il provoquait leur prolifération par stimulation de leur fécondité (1). Chez les insectes, KNUTSON (1955) a constaté que des *Drosophila melanogaster* ayant survécu à un traitement au dieldrin qui avait provoqué 66 à 92 p. 100 de mortalité, pondaient davantage d'œufs et produisaient 5,8 p. 100 d'adultes de plus que les insectes témoins. En particulier, cet auteur a noté que la production d'œufs a été fortement stimulée pendant les 10 jours suivant le traitement. Toutefois, les mouches non traitées se sont avérées plus fécondes vers la fin de leur vie. KNUTSON remarque à ce propos que les mouches ayant survécu au traitement avaient une plus grande longévité que les témoins, ce qui peut expliquer la différence de fécondité en leur faveur.

AFIFI et KNUTSON (1956) ont étudié sur la mouche domestique la fécondité de femelles survivant à un traitement par le dieldrin, avec des doses égales à la DL 60. Les mouches traitées à l'âge de 3 jours ont présenté, pendant la première semaine de ponte, une fécondité inférieure au témoin; mais celle-ci s'accrût ensuite et la dépassa. Finalement, les mouches traitées ont donné 16,7 p. 100 de plus d'adultes que les individus normaux. Un autre fait important mis en évidence par des auteurs réside dans l'augmentation de fécondité de la descendance des individus traités. Celle-ci aurait été supérieure de 69,2 p. 100 à celle du témoin. Aucune différence de longévité ne s'est manifestée entre mouches traitées et mouches normales.

KUENEN (1958) a observé une augmentation notable de fécondité chez des *Calandra granaria* élevées dans du blé contenant des doses assez faibles de D.D.T. (de 0,10 à 0,125 mg pour 100 g. de grain).

KUENEN a fait remarquer que si l'on tient compte de la mortalité des femelles dans le lot expérimental C3, la production d'adultes par femelles est ici encore supérieure à celle du lot témoin.

Le tableau de la page 62 résume les principaux résultats obtenus par cet auteur.

(1) CHABOUSSOU (1965, 1966) a émis une hypothèse trophique pour expliquer la multiplication d'acariens ou d'insectes phytophages, consécutive aux traitements insecticides. Selon cet auteur, cette pullulation « résulte non de la destruction — réelle ou supposée — des ennemis naturels, mais de l'augmentation de fécondité et de longévité de ces phytophages à la suite de modifications d'ordre biochimique entraînées dans la plante par l'action des pesticides ». Il s'agit essentiellement selon cet auteur d'un phénomène d'ordre nutritionnel qu'il a dénommé « Trophobiose ».

Lot expérimental	Nombre total d'adultes produits par 100 ♀ de *calandra granaria*	Pourcentage de production d'adultes par rapport au témoin
Témoin	4 962	100
C1 = 0,10 mg /100 g	6 062	122
C2 = 0,125	5 956	120
C3 = 0,250	2 638	53 (sans tenir compte de la mortalité des géniteurs)

Knutson (1958) a aussi observé que le contact permanent avec des doses subléthales de dieldrin, résidus de traitements anciens, avait provoqué dans une ferme du Kansas, un fort accroissement de la résistance et du potentiel biotique d'une souche sauvage de *Musca domestica.*

A l'opposé des travaux précédents, d'autres publications mentionnent une diminution de fécondité après intoxication avec divers insecticides. Lineva (1955) a étudié l'influence d'une intoxication chronique au D.D.T. sur l'ovogénèse. Cette publication en langue russe semble être passée inaperçue, malgré l'importance fondamentale de sa contribution. Des mouches domestiques (au stade larvaire et adulte) ont été traitées pendant plusieurs générations consécutives à de fortes doses de D.D.T. égales ou supérieures à la DL 70. Il apparait dès la première génération, un certain nombre de femelles présentant des altérations de l'ovogénèse. La proportion de ces individus s'accroit pour atteindre un maximum de 60 à 70 p. 100 après 4 ou 5 générations, puis décroit pour se stabiliser à 10 p. 100 environ vers la 10e génération.

Les troubles de l'ovogénèse observés n'ont cependant point fait l'objet d'études histologiques, Lineva s'étant limitée à décrire l'aspect macroscopique des ovaires. Ceux-ci montrent principalement un retard de maturation des ovocytes, un développement asynchrone des follicules ovariens, une dégénérescence des œufs mûrs et parfois même de tous les follicules d'un ovariole. Dans une note ultérieure (1960), cet auteur décrit des effets comparables après intoxication au Diazinon. Il observe une stérilisation accompagnée

d'une réduction de la viabilité des stades préimaginaux, mais il se borne à une évaluation qualitative de la perte de fécondité sans donner de chiffres précis.

Loschiavo (1955) fait aussi état d'une réduction de fécondité chez des *Tribolium confusum* ayant survécu à une intoxication au D.D.T., de même qu'Adkisson et Wellso (1962) chez des femelles de *Coleomigella maculata* qui ont reçu au moment de leur sortie de pupaison des doses de D.D.T. entraînant 10 à 20 p. 100 de mortalité.

Duncan (1963) signale une suppression des pontes chez des femelles d'*Aedes aegypti* traitées au dieldrin à la dose de $7{,}5 \times 10^{-3}$ µg, laquelle provoque 8 p. 100 de mortalité en 24 heures (il faut cependant remarquer que la mortalité s'est élevée à 80 p. 100 dans les 10 jours suivant le traitement, alors que celle du témoin est restée nulle pendant ce laps de temps, ce qui prouve que la dose était beaucoup plus toxique que ne le laissait penser la mortalité évaluée après 24 h.).

Plus récemment, Beard (1965) a repris les travaux de Lineva et Derbeneva-Ukhova (1962) concernant l'action du D.D.T. sur l'ovogénèse de la mouche domestique et son influence sur le déterminisme de la résistance. Cet auteur a nourri des femelles de *Musca domestica* dès leur éclosion, avec du lait en poudre renfermant des traces de D.D.T. La mortalité enregistrée est insignifiante selon cet auteur, mais l'intoxication chronique des femelles a perturbé fortement leur potentiel reproducteur, puisque la ponte moyenne du lot témoin a été de 120 œufs par individu pendant le premier cycle gonotrophique, alors que chez les mouches alimentées avec des traces de D.D.T. (1) cette moyenne n'a été que de 26 œufs.

Enfin Georghiou (1965) a constaté que le traitement de mouches domestiques avec des doses subléthales de divers carbamates (moitié de la dose provoquant 10 p. 100 de mortalité) induisait une diminution significative de la production d'œufs avec certains insecticides (Isolan, Dimétilan, Carbaryl) tandis que d'autres composés (Pyrolan, physostigmine) étaient sans effet. Cependant, bien que les doses utilisées n'aient entraîné qu'une faible mortalité, cet auteur note que tous les individus ont atteint le stade « knock-down »

(1) Il est cependant difficile de comparer ces résultats avec ceux obtenus dans les empoisonnements par contact. L'absorption du toxique par voie buccale influence certainement de façon plus profonde le métabolisme général (réserves, etc.) que dans les intoxications par voie tégumentaire.

réversible (contrairement à ce que nous observons avec de telles doses dans les traitements au lindane), ce qui indique une action profonde sur l'ensemble de la physiologie des insectes.

B. — Observations personnelles

Nous avons étudié l'influence du Lindane sur la fécondité de la mouche domestique. Nos expériences portent sur des femelles âgées de plus de 36 heures, qui reçoivent l'insecticide en application topique par des microgouttes déposées sur le thorax. Pour chacune des doses utilisées, nous avons isolé un lot de 20 à 50 femelles survivantes et nous avons comparé la production d'œufs, de pupes et d'adultes, avec celle d'un lot témoin de même provenance, de même âge, de même poids moyen et comportant le même nombre de femelles. Après traitement, les mouches sont placées dans des cages d'élevage en présence d'eau, de sucre et de lait en poudre. La mortalité est comptée après un délai de 48 heures. La fécondité des femelles survivantes, mises ensuite en présence de mâles, est estimée selon notre technique décrite plus haut de prélèvement des pontes et d'élevage des larves. Les œufs produits par des femelles sont recueillis chaque jour, placés sur un disque de papier filtre humide sous la loupe binoculaire, triés et comptés un à un à l'aide d'un pinceau fin.

L'examen des données réunies dans le tableau III, montre que l'on doit distinguer deux modalités différentes et même opposées dans l'influence du lindane sur le potentiel reproducteur des femelles survivantes. Les doses relativement faibles inférieures à la DL 50, stimulent la fécondité (1), la fertilité (2) et en définitive la productivité (3) des femelles. Au contraire, les doses supérieures à la DL 50 inhibent les fonctions de reproduction, le nombre de survivants stériles étant d'autant plus élevé que la mortalité est plus forte.

(1) Fécondité : nombre d'œufs pondus par femelle.

(2) Fertilité : rapport du nombre de descendants adultes au nombre d'œufs pondus.

(3) Productivité : rapport du nombre de descendants sur le nombre de femelles. On peut distinguer une productivité nette $= \frac{\text{Nombre d'adultes}}{\text{Nombre de ♀ reproductrices survivantes}}$

et une productivité brute $= \frac{\text{Nombre de descendants adultes}}{\text{Nombre de ♀ soumises au traitement}}$

1° *Effets du traitement au lindane sur les femelles survivantes.*

La courbe en trait plein de la fig. 10 représente la variation de la productivité des femelles survivant à des doses croissantes de lindane, en fonction de la mortalité observée. Si l'on se rapporte à la production d'adultes du lot témoin, considéré ici comme égale à 100, on constate qu'avec des doses de lindane entraînant une mortalité inférieure à 50 p. 100 la productivité des mouches survivantes est accrue, tandis qu'avec des doses plus fortes, provoquant de 50 à 98 p. 100 de mortalité, cette productivité des survivants diminue. Les chiffres portés en ordonnée représentent en p. 100, le rapport entre le nombre d'adultes produit par des femelles survivantes au traitement et celui produit par des femelles témoins (= productivité nette de la population).

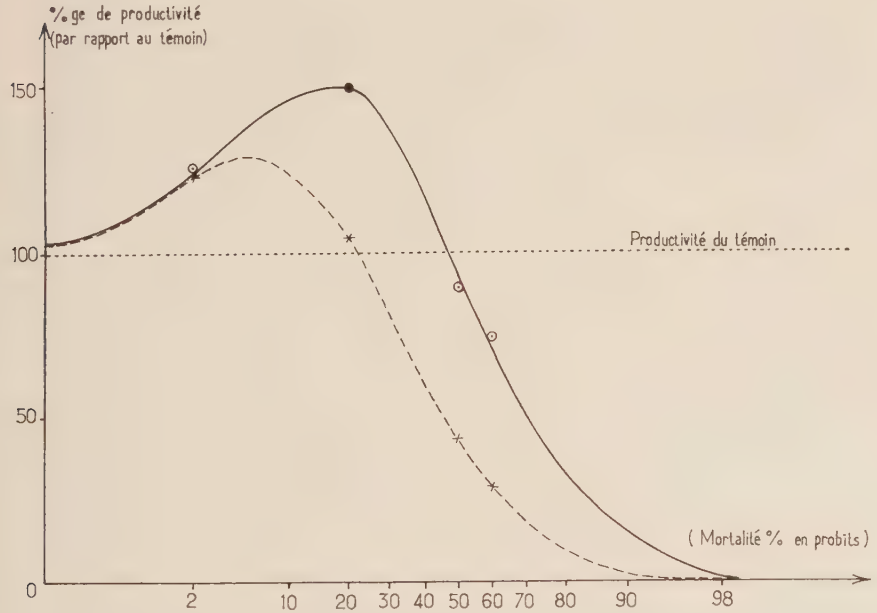


Fig. 10. — Influence d'un traitement au lindane sur le nombre de descendants des femelles survivantes (productivité nette, courbe en trait plein) ou sur le nombre de descendants de l'ensemble des femelles soumises au traitement (productivité brute, courbe en trait interrompu). En dépit de la mortalité la productivité brute s'accroît pour des doses qui n'entraînent pas une mortalité supérieure à 20 p. 100. La productivité nette (des seules femelles survivantes) s'accroît jusqu'à des doses entraînant 50 p. 100 de mortalité.

TABLEAU III

Effets des doses croissantes de lindane sur le potentiel reproductif (fécondité, fertilité et production d'adultes des ♀ survivantes

Souches	Lot de ♀	Dose en µg/♀	Pourcentage de mortalité	Nombre de ♀ utilisées pour établir les effets sur le potentiel reproductif	Fécondité. Production moyenne d'œufs par ♀	Rapport de fécondité des ♀ survivantes et témoin × 100	Productivité : nombre moyen d'adultes produits par ♀ survivantes	Rapport des productivités des ♀ survivantes et témoin × 100	Fertilité : rapport entre le nombre d'adultes obtenus et le nombre d'œufs pondus	Rapport des fertilités des ♀ survivantes et témoin × 100	Effet sur la population. Production comparée d'adultes pour les ♀ traitées et témoins × 100
S (I.N.A.)	survivantes	10^{-4}	0	30			201	97,5			100
	témoin			30			208	# 1			
R (I.N.A.)	survivantes	0,6	2 %	25	232	107	140	127	0,603	1,13	126
	témoin			25	218		110		0,505		
S (I.N.A.)	survivantes	0,03	20 %	20	530	147	260	156	0,490	1,07	106,5
	témoin			20	362		266		0,458		
S (I.N.A.)	survivantes	0,01	50 %	50			185	91			45
	témoin			40			203				
O.M.S.	survivantes	0,08	60 %	20	243	73,3	85	76,5	0,35	1,04	29
	témoin			20	331		111		0,335		
S (I.N.A.)	survivantes	1	99 %	4	0	0	0	0			0

Ces chiffres ont été établis, en relevant la production quotidienne en œufs des ♀ jusqu'à leur mort naturelle sauf pour R (I.N.A.) où ils ne portent que sur les 3 premières semaines.

De façon plus précise on constate que pour des doses très faibles de lindane, nettement inférieures à la dose minimale théorique qui provoque un début de mortalité (dose au plus égale au 1 20e de la DL 50 pour la souche S. I. N. A.), on n'observe aucune modification de la fécondité. Puis, avec des doses croissantes d'insecticides apparaît une stimulation du potentiel de reproduction jusqu'à un maximum, situé aux alentours de la DL 20. Pour de telles doses, nous avons relevé une production d'adultes supérieure de 51 p. 100 à celle du témoin. On doit noter d'ailleurs que les doses inférieures a la DL 20 ne causent peu ou pas de symptômes d'intoxication dans la population survivante, les mouches dépassant rarement le stade choréo-ataxique et retrouvant ensuite une activité normale.

Au delà de la DL 50 se manifeste une réduction sensible de la fécondité et de la fertilité des femelles survivantes. Cette dernière est de 23 p. 100 inférieure à celle du témoin pour la DL 60. Cette stérilité relative s'accroit dès lors avec la dose. En outre, il apparaît à partir de DL 80 un nombre de plus en plus élevé de femelles totalement stériles et d'individus présentant des séquelles durables de l'intoxication : paralysie de la trompe, des pattes antérieures ou postérieures, ailes bloquées en position abaissée ou relevée. Au dela de la DL 95, nous avons observé une stérilité quasi absolue des rares femelles survivantes.

2° *Effets du traitement au lindane sur la population.*

Cette étude, sur les modifications du potentiel reproducteur des femelles de mouches domestiques consécutives a une intoxication au lindane, nous permet de tirer des conclusions importantes relatives à la pratique des traitements insecticides. Si en effet on considère, non plus la productivité des seules femelles survivant au traitement, mais le taux d'accroissement de la population initiale soumise à l'insecticide, par rapport à la population témoin (ce que l'on pourrait appeler la productivité brute de la population) on constate (courbe en pointillé, fig. 10) que ce taux d'accroissement dépasse encore celui du témoin pour des doses inférieures à la DL 20. Il est remarquable que pour ces faibles doses, le lindane stimule la fécondité et la fertilité des survivants et provoque en définitive un

accroissement en valeur absolue de la population à la génération suivante. Cet accroissement est maximum pour une dose située aux alentours de la DL 10, laquelle provoque une augmentation de l'ordre de 25 p. 100 du nombre des descendants des femelles soumises au traitement.

3° *Effets du lindane sur la physiologie ovarienne.*

L'étude de l'anatomie et de l'histologie des ovaires prélevés sur des femelles ayant survécu à une intoxication au lindane nous a montré qu'il fallait distinguer le cas des femelles ayant subi un ou deux traitements au cours des premiers jours de leur vie imaginale de celles issues de générations qui avaient subi des traitements insecticides pendant deux générations ou plus, état que l'on peut qualifier d'intoxication chronique.

Dans le cas des intoxications provoquées par une seule application les femelles traitées à des doses inférieures à la DL 50 ne présentent aucun signe visible d'altération ovarienne. Cependant, à partir de doses provoquant 30 à 40 p. 100 de mortalité et quand le traitement est appliqué peu de temps après l'émergence des adultes, les femelles survivantes manifestent un retard dans le développement de leurs gonades. La pl. III fig. *A* à *D* représente des ovaires prélevés sur des individus âgés de 5 jours, qui avaient reçu au moment de leur éclosion, puis à l'âge de deux jours une dose de lindane ayant entraîné une mortalité globale de l'ordre de 40 p. 100. On remarque que les ovaires ont un aspect apparemment normal, mais qu'ils présentent une structure comparable à celle d'un stade plus jeune, par rapport à ceux des individus témoins du même âge (pl. III, fig. *E* à *H*). L'intoxication provoque donc un retard dans la vitellogénèse. L'étude histologique confirme ces observations, les follicules ovariens ne montrent aucune trace de dégénérescence ovocytaire, mais un simple retard dans la constitution des réserves vitellines; exceptionnellement, on rencontre des indices de pycnose et d'atrésie. Les ovaires d'individus intoxiqués à des doses inférieures à la DL 50 reprennent ensuite, vers l'âge de 9-10 jours un aspect normal, et la fécondité demeure supérieure à celle du témoin.

Pour les doses supérieures à la DL 50, qui provoquent au contraire une diminution de reproduction, le retard de développement est encore plus grand. Une proportion d'individus de plus en plus élevée conserve même indéfiniment des ovaires d'aspect juvénile ou de moindre taille que ceux d'individus témoins de même âge. On observe même dans certains d'entre eux, un nombre anormalement élevé d'atrésies folliculaires accompagnées parfois d'un développement inégal de la gonade droite et gauche.

Dans le cas des intoxications chroniques, appliquées sur plusieurs stades et pendant plusieurs générations, on observe beaucoup plus fréquemment des altérations pathologiques et des anomalies. Les planches IV et V figurent des altérations ovariennes observées chez des individus de la 3e génération, issus de parents traités à l'état adulte avec une dose de lindane ayant causé 60 p. 100 de mortalité et dont les larves (à chaque génération) ont été élevées dans un milieu contenant des traces de lindane (mortalité larvaire de 70 p. 100). L'aspect des gonades devient en pareil cas semblable à celui décrit par Lineva (1955, 1960) après empoisonnement au D.D.T. ou au diazinon. Les deux ovaires sont souvent asymétriques; ils présentent une taille plus faible que celle des individus témoins de même âge et sont même parfois atrophiés. La figure *A* planche IV montre qu'il se produit un développement asynchrone des follicules, certaines ovarioles renfermant des œufs bien formés, tandis que dans d'autres, contigues aux précédentes, les follicules se trouvent encore au stade de la prévitellogénèse.

On remarque aussi de nombreuses atrésies folliculaires dans les ovaires de mouches intoxiquées. Ces phénomènes de dégénérescence, relativement peu nombreux chez les individus normaux, deviennent très fréquents dans les cas d'intoxication chronique. Ils consistent en une prolifération des cellules folliculaires, qui forment une assise multicellulaire autour de l'ovocyte pycnotique. La multiplication de ces cellules produit des travées d'un parenchyme atrésique, qui occupe l'espace laissé libre par l'ovocyte en résorbtion. Ultérieurement les cellules folliculaires et nourricières se pycnosent à leur tour; leur noyau diminue de volume, devient très chromophile tandis que leur cytoplasme se vacuolise. A l'opposé de ce que l'on observe dans les ovaires normaux, de telles atrésies se rencontrent

non seulement dans les follicules jeunes, mais dans ceux dont le dépôt vitellin a commencé, parfois même d'œufs proches de la maturité, déjà engagés dans l'oviducte pair. La pl. V, fig. *A* à *D* présente de telles figures de dégénérescence.

Quelle est l'explication physiologique de cette action du lindane sur la reproduction des femelles survivantes ? il est fort peu probable que cet insecticide agisse directement sur la gonade. S'il en était ainsi, fécondité et productivité devraient décroître de façon continue en fonction de la dose appliquée. Or, les lésions que nous avons observées et la façon dont varie la fécondité avec des doses croissantes d'insecticide, fécondité qui présente d'abord un accroissement puis une diminution (cf. fig. 10), suggèrent plutôt une action indirecte. C'est sans doute au niveau des mécanismes neuroendocrines qui règlent la physiologie ovarienne, qu'agit le toxique. La variation de productivité des mouches en fonction de la dose (cf. fig. 10) montre que l'action du lindane sur les ovaires résulte de l'effet conjugué de deux phénomènes antagonistes, l'un favorable (aux faibles doses) l'autre nocif (aux fortes doses).

Il est actuellement acquis que le développement des ovocytes et plus particulièrement la formation de leurs réserves vitellines, sont conditionnés par plusieurs neurohormones des *corpora allata* et de la *pars intercerebralis*. Girardie (1966) suggère une double action des neurohormones de la *pars intercerebralis*. Les cellules de type A et B secréteraient une neurohormone qui interviendrait directement dans la synthèse des protéines sanguines utilisées par l'ovaire pour l'élaboration du vitellus tandis que les cellules de type C agiraient indirectement par l'intermédiaire des *corpora allata* dont elles stimuleraient la propre neurosécrétion, cette dernière agissant sur l'ovaire, en règlant l'absorbtion des protéïnes sanguines. Highnam (1962), Hill (1962), Strong (1965), Girardie (1966) et O'lie (1967), entre autres, ont montré que l'ablation des *corpora allata* ou la destruction des cellules neurosecrétrices de la *pars intercerebralis* arrêtaient la ponte chez diverses espèces d'insectes. Girardie (1966) écrit que la destruction par électro-coagulation de la *pars intercerebralis* de *Locusta* bloque le développement de l'ovaire à un «stade que l'on peut admettre coïncider avec le début du dépôt vitellin».

C'est précisément l'aspect que revêtent les ovaires de mouches

domestiques stérilisées de façon temporaire ou définitive par un traitement avec des doses de lindane égales ou supérieures à la DL 50, effectués peu de temps après leur sortie du puparium.

Nous mettons en rapport les troubles du développement ovocytaire observés, avec les lésions que nous avons décrites (chapitre II) au niveau des cellules neurosécrétrices de la *pars intercerebralis* en microscopie électronique et photonique. L'action stérilisante des fortes doses de lindane résulterait essentiellement d'un blocage de l'activité des cellules neurosécrétrices de la *pars intercerebralis*, interdisant le déroulement normal des processus de la vitellogénèse. Toutefois, ce blocage serait différent ou partiel pour les faibles doses d'insecticide. On peut même supposer que l'effet stimulant des faibles doses sur la productivité résulte simplement d'un stockage temporaire de neurohormones en particulier de celles agissant indirectement sur les *corpora allata* dont la libération retardée expliquerait ensuite l'effet stimulant (la ponte est plus forte surtout dans les jours qui suivent le traitement, cf. Knutson sur Drosophile). Dans ce cas, il y a simplement retard de l'ovogénèse, sans inhibition de la synthèse des protéines sanguines. Cette protéinhémie ne serait bloquée que par les fortes doses, ce qui se traduit par des images d'atrésies ovocytaires fréquentes. Cependant, l'action stimulante des faibles doses sur le potentiel reproducteur pourrait résulter d'une libération accrue des neurohormones des *corpora allata*. Kuipers (1962) a en effet tenté d'interpréter l'accroissement de fécondité qu'il a observé chez des femelles de Doryphore ayant reçu une injection intrahœmocœlienne de doses subléthales de D.D.T., par une action au niveau des *corpora allata*. Toutefois, la différence du volume des *corpora allata* des insectes traités avec ceux des témoins (taille légèrement supérieure chez les insectes intoxiqués) n'est pas significative selon cet auteur.

Les insecticides auraient aussi une action sur la fécondité des mâles. Adkisson et Wellso (1962) chez *Pectinophora gossypiella*, Kiyoku et Tamaki chez *Callosobruchus sinensis* (1959) ont constaté après traitement au D.D.T., que des femelles normales (non traitées) accouplées à des mâles intoxiqués produisaient plus d'œufs. Par ailleurs, Milani (1962) note que les mâles de *Musca domestica*, traités à des doses subléthales de D.D.T. s'accouplent moins souvent.

Nous avons observé personnellement que des femelles vierges non traitées (souche OMS de *Musca domestica*) accouplées à des mâles de la même souche ayant reçu une dose de lindane provoquant 65 p. 100 de mortalité, ont présenté une fécondité et une fertilité à peu près normale. Nous avons obtenu 362 œufs et 116 adultes par femelle, dans le lot de femelles accouplées à des mâles traités au lindane, contre 311 œufs et 111 adultes par femelle, dans le lot témoin. De nouvelles recherches s'imposent sur cette question afin de vérifier dans quelle mesure ces différences sont significatives.

Nous pouvons donc conclure que le lindane, de même que la majorité des insecticides de synthèse exerce une action profonde sur la fécondité, la fertilité et la productivité des femelles survivant à une intoxication avec ces composés.

IV. — MÉCANISMES DE LA RÉSISTANCE AUX INSECTICIDES

Plusieurs auteurs ont tenté d'expliquer la résistance des insectes aux insecticides par l'existence chez certains individus de particularités biochimiques qui leur permettent de tolérer des doses élevées de toxique. Les travaux effectués en ce sens ont porté essentiellement sur la comparaison de diverses activités enzymatiques et sur la teneur en lipides et en métabolites, chez des souches résistantes ou sensibles.

Beaucoup de travaux n'ont cependant apporté, à ce sujet que des résultats négatifs. Ainsi Pratt et Babers (1953) puis Frontali (1956) ont comparé l'activité cholinestérasique de souches normales et résistantes aux chloro-organiques. Ils ont trouvé des différences d'une lignée à l'autre, mais sans corrélation avec le niveau de résistance. De même, l'activité des succino-déshydrogénases (March 1952) et des cytochrome-oxydases (Perry et Sacktor, 1955) ne présente aucune variation liée à un degré plus ou moins grand de tolérance. L'activité de la phosphatase alcaline ou de la phosphatase acide, chez des mouches domestiques et des Blattes sensibles ou résistantes au D.D.T. et au chlordane, a été étudiée par Alexander, Barker et Babers (1958); ces auteurs n'ont pas

trouvé qu'il existe une corrélation entre ces activités enzymatiques et le niveau de tolérance des différentes souches. Cependant, Baye (1960) a observé que la teneur en lipase de mouches domestiques résistantes au D.D.T. était supérieure à celle de mouches sensibles.

Reiff (1956) n'a pu mettre en évidence aucune différence quantitative ou qualitative dans les acides aminés libres de l'hémolymphe. D'autres travaux, effectués sur les composés du métabolisme intermédiaire ont aussi conduit aux mêmes conclusions.

La principale particularité des souches résistantes semble résider dans leur teneur supérieure en lipoïdes, plus particulièrement en acides gras insaturés. Wiesmann (1955), Wiesmann et Reiff (1956) ont montré que non seulement le tégument et les tarses, mais aussi le système nerveux central des mouches domestiques résistantes au D.D.T., présentaient une plus grande richesse en lipides (triglycérides et cholestérides) que les souches sensibles. De plus, des colorations vitales au Soudan III ont révélé à ces auteurs, qu'il existait dans les cellules trichogènes de nombreuses vacuoles lipidiques chez les mouches résistantes alors que les individus sensibles en étaient dépourvus. Par ailleurs, l'injection d'huile d'olive ou de cholestérol à des asticots augmente la tolérance des adultes au D.D.T., tant chez les individus résistants que sensibles.

Lord et Rasmusson (1961) ont aussi constaté que différentes souches de *Drosophila melanogaster* résistantes au Parathion possèdaient une richesse en phospholipides supérieure à celle des souches normales.

Il y a donc corrélation entre la teneur en lipides et la résistance au D.D.T. chez *Musca domestica* (1).

Il semble cependant difficile d'affirmer, d'après ce qui précède, que la résistance aux insecticides découle d'une plus haute teneur enzymatique des insectes résistants (leur permettant de supporter de plus fortes inhibitions) ni que les quelques différences observées concernant la richesse ou la nature des lipides suffisent à expliquer les hauts niveaux de résistance atteints dans les diverses souches.

(1) Toutefois Matsubara (1960) conclut que la différence de sensibilité aux insecticides qui existe entre mâles et femelles chez *Musca domestica* ne peut être expliquée par des variations quantitatives et qualitatives des lipides lesquels se révèlent peu différents selon les sexes.

Les recherches furent donc orientées rapidement vers la mise en évidence de mécanismes physiologiques permettant aux insectes de transformer les insecticides en dérivés non toxiques.

A. — Physiologie comparée de la résistance

Il est apparu dès les premiers travaux sur la toxicologie du lindane que les vertébrés et les insectes n'accumulaient pas ce composé dans les tissus mais étaient capables de le détoxifier à la faveur de diverses transformations.

Davidow et Frawley (1951) observèrent que des rats, nourris avec des aliments comportant de l'H.C.H., transformaient cet insecticide en dérivés hydrosolubles indéterminés.

Van Asperen et Oppenoorth (1954) firent les mêmes observations sur des souris blanches injectées par voie sous-cutanée, intra-péritonéale ou intraveineuse. Ils constataient, dans ces conditions, que les rongeurs éliminaient en 4 jours, 1 mg de toxique par 15 g. de poids corporel. Dans cette même publication, ces auteurs montrèrent que des *Musca domestica* résistantes étaient capables de transformer entièrement en 24 heures 22 µg de lindane. Ils ne retrouvaient plus ce composé que sous forme de traces indosables dans les tissus de ces mouches, après ce laps de temps.

1° *La vitesse de métabolisation du lindane chez divers insectes.*

Toutes les publications effectuées sur ce sujet révèlent que les animaux étudiés ont toujours la possibilité — à des degrés divers — de dégrader cet insecticide en dérivés non toxiques, dans la mesure où on ne leur a pas administré des doses léthales. La seule exception apparente est celle citée par Bradbury, et Newmann (1953) qui, dans des pupes et des adultes de mouches domestiques dont les larves furent élevées dans un milieu renfermant du lindane, retrouvent des traces importantes de ce toxique à des concentrations qui auraient été mortelles pour des adultes d'une souche normale sensible.

Oppenoorth (1954) a constaté que des mouches sensibles métabolisaient le lindane de la même manière que les mouches résistantes, mais à un degré moindre. Par ailleurs, l'abdomen séparé

du reste du corps continue pendant 4 heures à transformer le poison et l'accumule dans une proportion supérieure aux autres tagmes. Oppenoorth a observé que l'on retrouve, après 4 heures, 50 p. 100 de la dose absorbée dans l'abdomen, lequel ne représente cependant que 25 p. 100 du poids total du corps. Ceci résulterait d'une absorption préférentielle du poison par le tissu adipeux, qui est plus abondant dans l'abdomen.

Oppenoorth (1955-1956), Bradbury et Standen (1956 et suivantes) ont étudié le catabolisme des isomères β et δ de l'H.C.H. Ces composés, beaucoup moins toxiques que l'isomère γ permettent de faire plus aisément des comparaisons entre souches résistantes et sensibles. Ils constatèrent que les individus sensibles de *Musca domestica* métabolisent les isomères α, β et δ au même degré que les résistants, mais que le taux de dégradation de l'isomère γ (lindane) est deux fois supérieur chez les mouches résistantes. Oppenoorth (1955) a montré que la vitesse de dégradation était plus faible chez les individus sensibles tout en demeurant importante. Il obtint les résultats suivants :

Isomère	Pourcentage de métabolisation selon la souche		
	S	R2	R1
α après 5 heures d'intoxication	23	50	69
δ après 18 h 30 d'intoxication	27	46	47

Cet auteur fait remarquer, avec juste raison, que les différences de vitesse de métabolisation ne rendent que partiellement compte des fortes différences de la DL 50 entre souches sensibles et résistantes. En effet, les taux de dégradation ci-dessus ne sont que des valeurs globales, et l'on ignore dans quelle mesure elles modifient la concentration du lindane au niveau des sites d'action privilégiés du toxique. De plus, Oppenoorth, souligne que la vitesse plus faible de métabolisation, observée chez les mouches sensibles, peut n'être que secondaire et résulter d'une action inhibitrice du toxique.

Dans une publication ultérieure plus importante (1956), Oppenoorth a étudié la dégradation de l'H.C.H. α et δ dans 8 souches de *Musca domestica* de résistance croissante. Il a trouvé une corrélation négative entre le niveau de résistance et le taux d'absorption tégumentaire de l'insecticide; il en conclut que la résistance résulte en partie d'une diminution du pouvoir d'absorption par le tégument.

Par ailleurs, cet auteur a observé une corrélation négative fort nette entre le TL 50 et le pourcentage d'α—H.C.H. non métabolisé dans les différentes souches. (fig. 11).

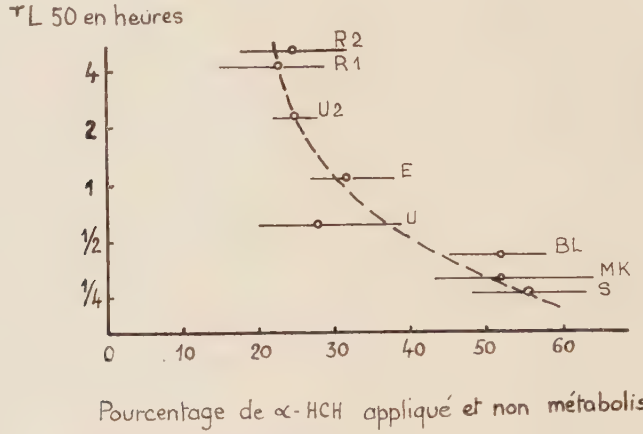


Fig. 11. — Corrélation entre le TL 50 de diverses souches de mouches domestiques, plus ou moins résistantes au lindane, et le pourcentage d'HCH absorbé et non métabolisé, après un temps déterminé. La quantité d'insecticide absorbé et non transformé, demeurant dans les tissus de la mouche traitée, est d'autant plus faible que le TL 50 de la souche, donc son niveau de résistance, est plus élevé. Les traits horizontaux représentent l'erreur standard pour chaque mesure (d'après Oppenoorth, 1956).

Bradbury (1957) a comparé le catabolisme du lindane marqué au C_{14} dans diverses espèces d'insectes et il a constaté que toutes possédaient l'équipement enzymatique indispensable pour métaboliser le composé. La mouche domestique, aussi bien chez les individus sensibles que résistants, possède un pouvoir de métabolisation surprenant (58 et 80 p. 100 respectivement). Bradbury a aussi trouvé 20 p. 100 de dégradation chez la blatte, 8 p. 100 chez la bruche du haricot et 5 p. 100 dans une souche *d'Anopheles gambiae* résistante au lindane.

Bridges et Cox (1959) ont aussi fait appel à l'isomère α, mais marqué au C_{14}; contrairement aux travaux d'Oppenoorth, ils n'ont trouvé aucune corrélation entre le taux de dégradation de l'H.C.H. α et le niveau de sensibilité de 3 souches de *Musca domestica*, les individus sensibles possèdant une vitesse de métabolisation intermédiaire entre celle des deux lignées résistantes au dieldrin. Mais

Bradbury et Standen (1960) qui ont utilisé la même technique arrivent à une conclusion opposée à celle de Bridges et Cox : le taux de dégradation de l'α — H.C.H. est proportionnel à la DL 50, pour le lindane, chez 4 souches de mouches domestiques.

Busvine et Townsend (1963) ont aussi observé une nette corrélation entre la vitesse de métabolisation du lindane et le niveau de résistance (15 p. 100 de dégradation chez les individus sensibles, 33p. 100 dans la souche « America », dont la DL 50 est accrue de 67 fois, et 44 p. 100 dans la souche « Uruguay H » dont le cœfficient de résistance au lindane s'élève à 220 (1). Plus récemment, Ishida et Dahm (1965 a) ont étudié la métabolisation *in vitro* de divers dérivés du cyclohexane, dont le lindane chez 10 espèces d'insectes et chez deux mammifères. Leurs résultats corroborent ceux des auteurs précédents, en ce sens que les mouches domestiques ont révélé une aptitude exceptionnelle à dégrader le lindane (tant dans les souches sensibles que résistantes). Cependant, plusieurs espèces, ayant présenté *in vivo* un taux de métabolisation important, se sont avérées inactives *in vitro* (ainsi Bradbury trouve un taux de métabolisation du lindane de 22 p. 100 chez la blatte alors que celui-ci est nul *in vitro*, d'après Ishida et Dahm. Par ailleurs Ishida et Dahm n'ont observé que des différences minimes entre le taux de métabolisation *in vitro* du lindane, chez des mouches domestiques appartenant à une souche sensible (CSMA, DL 50 : 0,08 µg/♀) ou à une souche résistante (« Illinois L, DL 50 : 0,26 µg/♀ »). Le taux de métabolisation de l'insecticide est respectivement de 28,5 p. 100 de la dose administrée chez les mouches sensibles et 32 p. 100 pour les mouches résistantes.

2° *Nature des métabolites produits par les réactions détoxifiantes.*

Bradbury et Standen (1955) montrèrent, dans leurs premiers travaux sur le métabolisme du lindane, que l'administration à des mouches domestiques d'isomère γ marqué au C_{14} ne se traduisait pas par une émission de CO_2 radioactif par voie respiratoire, mais conduisait à une transformation du toxique en composés

(1) Remarquons cependant que dans la même publication ces auteurs n'ont point trouvé de différence entre deux souches de *Lucilia cuprina* dont l'une était fortement tolérante au lindane.

radioactifs hydrosolubles. Ces auteurs constatèrent ultérieurement (1956) que les tissus de mouches résistantes renferment en proportion égale des métabolites hydro et liposolubles et que les produits cataboliques sont finalement éliminés par voie malpighienne.

Sternburg et Kearns (1956) puis Winteringham (1958) ont identifié, comme métabolite intermédiaire important des processus de détoxification, le pentachlorocyclohexène — $C_6 H_6 Cl_5$ (ou PCCH).

Ishida et Dahm (1965 a) ont montré que le PCCH était à son tour métabolisé *in vitro*, à un taux élevé, chez la plupart des insectes qu'ils ont étudiés. Ces auteurs expliquent, par ce fait, que Bradbury et Standen (1958) puis Bridges (1959), n'aient ordinairement que des concentrations minimes de PCCH, inférieures à 1 p. 100 chez diverses souches de *Musca domestica* : un métabolite intermédiaire est d'autant moins concentré qu'il est lui-même plus rapidement métabolisé.

Perry (1964) a observé, chez des mouches résistantes, une élimination par excrétion malpighienne de 60 p. 100 du lindane administré, le reste étant accumulé dans les tissus, sous forme de composés déchlorés, non toxiques (2 et 2′ fig. 12).

Bradbury et Standen (1959, 1960) constatèrent que la dégradation du lindane *in vivo* et *in vitro* par des mouches domestiques conduisait finalement à des dichlorothiophenols, avec élimination de 4 atomes de chlore. De plus, la présence d'un composé de formule R-SH est indispensable à la réaction. Ces auteurs pensent qu'il s'agit du Glutathion, car la dégradation du lindane *in vitro*, à partir de poudres de mouches, nécessite l'adjonction de cette substance au substrat. Ils ont déduit que la première étape du catabolisme de cet insecticide nécessitait la formation d'un composé d'addition avec le glutathion, ayant pour formule brute $C_6 H_6 Cl_5$ S G. Plus récemment Cohen, Smith et Trabert (1964) ont montré, chez *Locusta*, que ce métabolite intermédiaire était bien constitué à partir du glutathion, dans une réaction sous la dépendance d'une glutathiokinase. Ishida et Dahm ont confirmé cette observation en stabilisant les enzymes qui catabolisent le lindane, par adjonction de glutathion.(1)

(1) Le glutathion semble même intervenir dans les étapes ultérieures de la dégradation du Lindane, ainsi Clark, Hitchcock et Smith (1966) ont montré *in vitro*, à partir de poudres d'insectes (mouches et criquets) et de tiques qu'il apparaît un catabolite intermédiaire déchloré, le S-(2,4 dichlorothiophényl-glutathion).

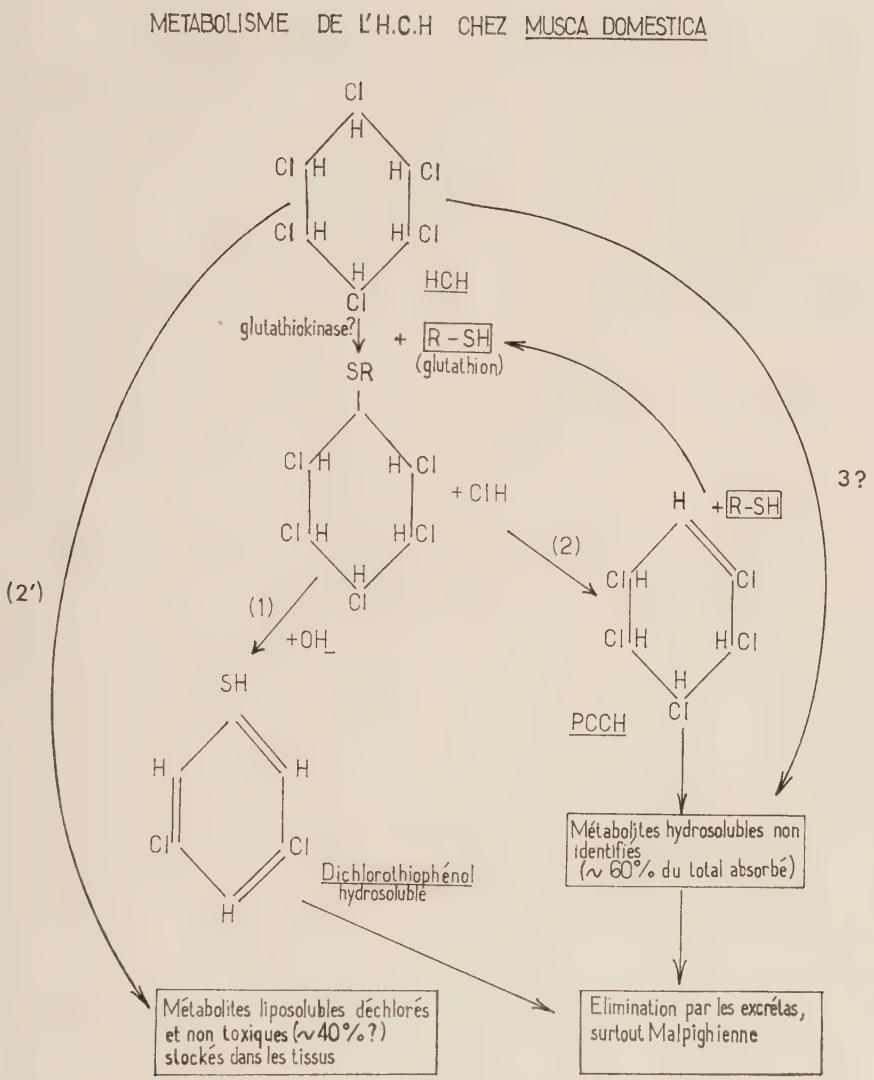


FIG. 12. — Les principales étapes de la dégradation métabolique de l'HCH chez *Musca domestica* (partiellement emprunté à PERRY, 1964).

Actuellement on peut donc résumer les données dont nous disposons sur la détoxification du H.C.H., chez *Musca domestica*, par le schéma de la figure 12. On remarque qu'il y aurait au moins

deux voies cataboliques, l'une (1) conduisant à la formation de dichlorothiophénol, l'autre (2) à des métabolites hydrosolubles, par l'intermédiaire du PCCH; de plus, l'existence d'une 3e modalité de dégradation n'est pas exclue. Selon Perry (1964) on aboutirait finalement à 60 % de métabolites excrétés et 40 p. 100 de dérivés non liposolubles et non toxiques stockés dans les tissus (2').

On ne dispose encore d'aucune indication sur l'importance relative de ces divers processus et sur leur cœxistence éventuelle chez une même souche.

3° *La nature des systèmes enzymatiques intervenant dans la détoxification selon l'état physiologique de l'insecte et la sensibilité ou la résistance de la souche.*

Ishida et Dahm (1965 b) ont réussi à isoler un groupe d'au moins 3 enzymes intervenant dans le métabolisme du lindane (isomère γ), des isomères α, β et δ et du PCCH, à partir de mouches domestiques de souches sensibles (NAIDM et OMS) ou de souches résistantes à l'H.C.H. (Illinois L.). La séparation des enzymes fut réalisée à partir d'extraits acétoniques de broyats de mouches adultes des deux sexes, par précipitation fractionnée avec du sulfate d'ammonium combinée à une filtration sur gels. Cette technique a permis aux auteurs d'attribuer à ces enzymes un poids moléculaire de 54 000 environ. L'identification des différentes enzymes a été réalisée par chromatographie sur colonne (Sephadex, phosphate de calcium et alumine).

Ishida et Dahm ont déterminé le taux de métabolisation *in vitro* de divers dérivés du cyclohexane, et confirmé que la présence du glutathion dans le milieu était nécessaire à la dégradation enzymatique de ces substrats. Ils n'ont obtenu que des métabolites hydrosolubles contrairement à ce qui fût observé *in vitro*, en particulier par Perry et Matson (cf. fig. 12). Le taux de métabolisation décroit dans l'ordre $\alpha > \gamma > \delta$ par ailleurs le PCCH est dégradé beaucoup plus rapidement que le lindane. Ces enzymes possèdent une certaine stéréospécificité bien qu'ils soient capables de transformer non seulement divers dérivés du cyclohexane, mais aussi le D.D.T. en D.D.E.

Selon Ishida et Dahm, il n'existerait aucune corrélation entre le niveau de résistance des souches et l'activité *in vitro* de ces enzymes sur le lindane. De même, l'augmentation de la DL 50 des individus au début de la vie imaginale ne dépend pas d'une métabolisation accrue, car l'activité *in vitro* demeure constante, avec le γ-H.C.H. pour substrat (fig. 13). A l'opposé, il semble que le taux de dégradation enzymatique du γ PCCH soit en corrélation avec le niveau de résistance. Ainsi, ces auteurs ont trouvé une activité de 495 unités par mgN pour la souche « NAIDM » sensible (DL 50 = 0,08 µg/♀) et de 1230 unités par mgN pour la souche résistante « Cradson P » (DL 50,1µg/♀). De même, le catabolisme du γ-PCCH semble croître propor-

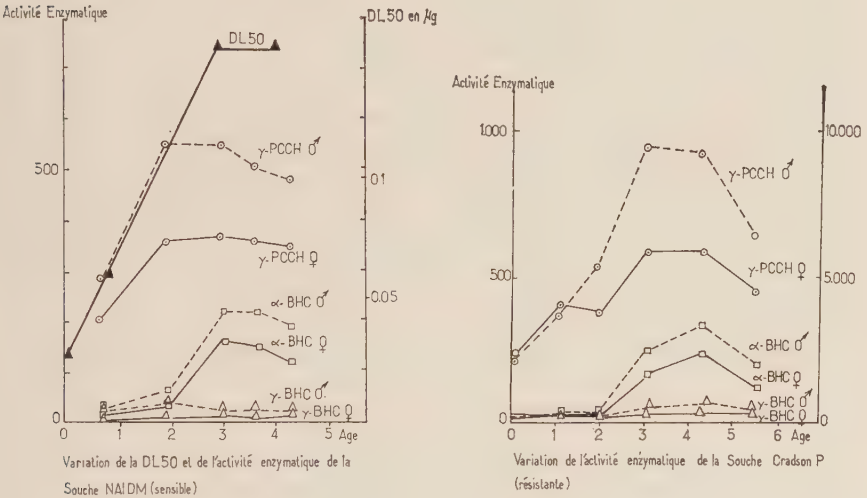


Fig. 13. — Comparaison de l'activité enzymatique *in vitro* de broyats de mouches sensibles (NAIDM) ou résistantes au lindane (Cradson, P.) : l'activité sur l'HCH, et surtout sur le -PCCH, présente une nette corrélation avec l'âge et le niveau de résistance. Elle reste au contraire constante si le lindane est utilisé comme substrat. (Selon Ishida et Dahm, 1965 *b*).

tionnellement avec la résistance accrue qui se manifeste au début de la vie imaginale.

De telles conclusions soulèvent la question suivante : Ishida et Dahm n'auraient-ils point isolé les enzymes transformant le PCCH

et perdu, dans les premières ou les dernières étapes de leur extraction, la majeure partie de ceux qui dégradent le lindane en γ-PCCH ? Ceci permettrait d'expliquer pourquoi leurs résultats sont en contradiction avec ceux obtenus *in vivo* par d'autres auteurs.

4° *Importance du rôle de la dégradation enzymatique du lindane dans les mécanismes physiologiques de la résistance.*

On pourrait se demander dans quelle mesure la dégradation enzymatique du lindane est responsable de la tolérance des insectes à ce composé. Nous venons de voir que les expériences réalisées *in vitro* ne mettent pas en évidence de différences fondamentales dans la vitesse de dégradation du lindane par des extraits acétoniques de mouches sensibles ou résistantes. *In vivo*, les taux de métabolisation sont deux à trois fois supérieurs chez les mouches résistantes. Comment expliquer dans ces conditions que la DL 50 s'accroisse de plus de 200 fois dans certaines souches ?

En réalité cette distorsion n'est qu'apparente. La détermination des DL 50 par la méthode des microgouttes (1) conduit à une surestimation des doses d'insecticide réellement absorbé; le calcul des DL 50 après injection intra-hœmocœlienne du toxique donne toujours des valeurs absolues nettement plus faibles.

Les problèmes que nous évoquons ici demeureront sans réponse aussi longtemps que l'on ignorera la localisation exacte des sites d'action et des sites de détoxification de l'insecticide. Il est évident, dans la mesure ou ces sites sont distincts, qu'un métabolisme total de la dose appliquée n'est pas nécessaire pour que la tolérance s'accroisse. Un mécanisme protecteur, maintenant les tissus vulnérables à l'abri de concentrations critiques, suffira pour réduire la sensibilité au toxique.

Le mécanisme physiologique de la résistance au lindane semble cependant conditionné, essentiellement, par une absorption ralentie du toxique accompagnée d'une accélération de son catabolisme.

(1) Cf. 2e partie technique de test, p. 92.

B. — Conclusions

Il n'existe pas de différence fondamentale dans le mode d'action du lindane selon que l'on considère des souches résistantes ou sensibles. Dans un cas comme dans l'autre, nous avons observé la même symptomatologie, se traduisant par des actogrammes rigoureusement superposables, les mêmes processus d'intoxication et des lésions histo et cytopathologiques identiques mais n'apparaissant qu'à des doses supérieures chez les individus résistants.

D'autre part, bien que les diverses étapes du catabolisme du lindane soient encore imparfaitement connues, puisque l'on n'a pas réussi à déterminer la nature exacte des métabolites hydrosolubles, ni celle des substances déchlorées liposolubles et non toxiques qui pourraient être produites au cours de la détoxification, certains faits paraissent cependant bien acquis, en ce qui concerne le mécanisme physiologique de la résistance. En particulier, tous les travaux réalisés sur ce sujet concordent pour attribuer aux souches sensibles et résistantes le même équipement enzymatique, réalisant les mêmes réactions de détoxification. Mouches résistantes et mouches sensibles au lindane diffèrent donc *quantitativement* plutôt que *qualitativement*, en ce qui concerne leurs réactions aux insecticides.

Cela pose le problème du déterminisme de ces différences que nous allons aborder dans la 2e partie de ce mémoire.

Deuxième partie

MODALITÉS DE L'ACQUISITION ET DE LA PERTE DE RÉSISTANCE AU LINDANE CHEZ LA MOUCHE DOMESTIQUE

La notion de résistance d'une espèce d'insecte à un insecticide ne peut être établie et précisée que par comparaison de l'efficacité de ce produit entre deux espèces ou entre deux populations isolées de la même espèce, dont l'une se révèle « normalement sensible ». En pratique, c'est après avoir constaté la diminution progressive ou brutale de l'efficacité de certains traitements insecticides (contre des insectes d'intérêt agricole ou médical) que l'on est arrivé à cette notion de résistance.

Ces différences de comportement à l'égard de l'insecticide doivent être évaluées quantitativement, si l'on veut en étudier la génèse ou l'évolution, dans des conditions expérimentales ou naturelles. C'est le but des tests insecticides d'apporter ces données numériques. Comme l'essentiel du travail qui doit être maintenant exposé repose sur une telle méthode d'appréciation quantitative et comme, à ce jour, peu de travaux ont été entrepris, en France, sur ce sujet, il nous a paru utile d'exposer en détail les diverses techniques des tests insecticides et d'en rappeler les principes ou les conditions de sécurité d'emploi.

I. — LES TECHNIQUES DE TESTS INSECTICIDES

Le but d'un test insecticide est de déterminer certaines constantes numériques qui caractérisent le mode d'action de ce toxique à l'égard d'une ou plusieurs espèces d'insectes, ou encore de différentes souches, races ou populations d'une même espèce. Ces données permettent d'évaluer, soit l'efficacité comparée des insecticides, soit le degré de sensibilité ou de résistance à ces toxiques de plusieurs espèces d'insectes ou de certaines de leurs populations locales. Telles sont la DL 50 (ou dose léthale moyenne) qui représente la dose théorique (en général appliquée par microgouttes) provoquant, en 24 h., 50 p. 100 de mortalité dans l'échantillon testé; le TL 50 (ou temps léthal moyen) qui indique le temps d'action nécessaire pour que le toxique (à une dose ou une concentration connue) provoque 50 p. 100 de mortalité; la CL 50 (ou concentration léthale moyenne) qui traduit l'efficacité d'un insecticide appliqué sur une surface (intoxication par contact tarsal) et précise la concentration nécessaire (en $\mu g/cm^2$ de surface) pour obtenir 50 p. 100 de mortalité en 24 h.

La réalisation d'un test insecticide constitue une opération délicate : d'une part, l'obtention d'un échantillon homogène présente de nombreuses difficultés, d'autre part, aucune méthode ne donne la certitude absolue que chaque individu aura reçu une dose égale de toxique.

Trois précautions essentielles sont donc à prendre :

1° — Rassembler un échantillon aussi homogène que possible en sélectionnant des individus de même âge, de même sexe et de même poids par exemple ce qui repose sur des conditions d'élevage bien standardisées (cf. plus haut).

2° — Utiliser une technique d'application du toxique qui assure une normalisation des conditions expérimentales, avant, pendant et après le traitement.

3° — Recueillir les données numériques des expériences et les analyser avec une statistique appropriée.

A. — Le choix de l'échantillon

Le nombre considérable de facteurs susceptibles de modifier la sensibilité de chaque individu à un poison contraint à standardiser au maximum les différentes étapes de la méthode expérimentale utilisée. Même en faisant appel à une méthode d'élevage aux résultats confirmés, l'obtention de lots de mouches homogènes quant à leur taille, leur âge et leur état physiologique soulève des difficultés considérables.

Les insectes doivent toujours être anesthésiés et manipulés de la même façon, leur intoxication doit s'effectuer dans des récipients de taille identique, renfermant toujours le même nombre d'individus placés dans une enceinte dant la température, l'hygrométrie et même l'éclairement sont rigoureusement ajustés.

Le prélèvement des mouches à tester a été exécuté selon deux méthodes. La première consiste à placer un bocal de verre renversé sur l'orifice ménagé dans la partie supérieure de la cage : les mouches attirées par la lumière se rassemblent plus ou moins vite à la partie supérieure du bocal qu'il suffit alors d'obturer par glissement d'une plaque de verre. La seconde fait appel à l'usage d'un aspirateur électrique dans le tuyau duquel on dispose coaxialement un manchon de nylon (un bas de nylon) retenu par un bracelet de caoutchouc. On peut capturer par ce procédé en quelques dizaines de secondes plusieurs centaines de mouches sans qu'elles soient traumatisées.

Les mouches sont ensuite rapidement anesthésiées au CO_2 et placées par groupes de quelques vingtaines dans des boîtes de Petri. En maintenant un courant de CO_2 sous le couvercle partiellement relevé, on peut alors aisément séparer les sexes. Les femelles seules ont été utilisées dans la plupart de nos tests. Les insectes sont conservés par groupes de 25 dans des boîtes plastiques cylindriques à couvercle grillagé avant d'être testés.

Williams (1946) fut le premier auteur qui eut recours au CO_2 pour anesthésier des mouches domestiques. Il a montré que ce gaz produisait une narcose entièrement réversible et ne perturbait pas la physiologie des insectes dans le cas d'exposition de durée raisonnable. Dahm et Kearns (1951) ont vérifié que les insectes anesthésiés

au CO_2 ne présentaient aucune perturbation dans le cycle des métabolites intermédiaires (acide pyruvique, phosphoarginine) et hexoses. Caldwell (1956) a montré que l'on pouvait même lui substituer la carboglace, plus facile à manipuler et il a vérifié aussi sa totale inocuité pour *Musca domestica*.

Nous avons personnellement déterminé pendant quelle durée l'on pouvait prolonger l'anesthésie sans danger pour la Mouche domestique. Nous avons observé les mortalités suivantes dans un échantillon de 100 femelles âgées de 3 jours, anesthésiées pendant 15 minutes au CO_2 puis placées dans les boîtes de Petri, sans eau et sans nourriture à 22° C.

Temps écoulé après l'anesthésie	Pourcentage de mortalité
24 heures	0
48 heures	10
3 jours	59
4 jours	88

Pendant les 36 premières heures, aucune mortalité ne s'est manifestée, de plus, les pourcentages observés à compter du second jour sont identiques à ceux d'un témoin non anesthésié placé dans les mêmes conditions. Pour des séjours plus long dans le gaz carbonique, et avec des individus d'âge croissant, nous avons relevé les pourcentages de mortalité suivants (cf. tableau IV).

TABLEAU IV

Influence de l'anesthésie au CO_2 sur la mortalité des femelles placées pendant 24 heures sans eau ni nourriture a 22 °C

Age des ♀ (en jours)	Mortalité du témoin non traité (%)	% mortalité des ♀ anesthésiées au CO_2, en fonction de la durée de la narcose			
		30 mn	1 h	1 h 30	3 h 30
2	0	0	0	0	—
5	0	0	—	0	—
8	0	2	—	6	—
14	4	8		20	34

Une anesthésie de 30 minutes est donc inoffensive pour des mouches domestiques du sexe femelle, âgées de moins de 8 jours.

Nous n'avons jamais dépassé 20 minutes de narcose dans la pratique de nos tests, durée n'ayant aucune incidence pour des femelles âgées de moins de 15 jours.

Les mâles sont par contre plus sensibles que les femelles et une anesthésie de 15 minutes suffit pour provoquer une certaine mortalité chez des individus âgés de plus de 5 jours.

Le choix des femelles, plus résistantes au CO_2 et présentant une longévité nettement supérieure à celle des mâles, s'impose donc dans la pratique des tests.

B. — La réalisation des tests

L'efficacité d'un insecticide peut s'évaluer de deux manières.

La première consiste à déterminer la mortalité y après un temps constant (24 h. par exemple) en fonction de doses croissantes de toxique : x_1, x_2, x_3 . . . . . x_n ce qui conduit à établir une courbe expérimentale représentative de la fonction $y = f(x)$. On calculera ensuite à partir de cette expression les diverses constantes caractéristiques dont la DL 50, dose théorique provoquant 50 p. 100 de mortalité en 24 h. ou la CL 50, concentration (en $\mu g/cm^2$ par exemple) provoquant le même effet.

La seconde méthode consiste à déterminer les mortalités consécutives à l'application d'une dose constante en fonction de temps croissants t_1, t_2, t_3 . . . . . t_n ce qui conduit à établir les relations $y = f(t)$ et à en déduire le TL 50, temps théorique au bout duquel 50 p. 100 des individus ont péri.

1° *Tests « mortalité-dose »*.

Il existe plusieurs techniques qui permettent d'administrer à des insectes une dose d'insecticide. Par ordre de précision croissante, nous citerons la méthode des contacts tarsaux, dont il existe plusieurs variantes, celle des microgouttes, appliquées « localement » sur une région bien délimitée du corps, et la technique des injec-

tions intra-hœmocœliennes. Nous avons utilisé les deux premières méthodes.

Le procédé le plus rapide et le plus simple, qui permet de travailler sur des échantillons comportant un grand nombre d'individus, consiste à placer les insectes au contact de surfaces recouvertes d'une quantité connue d'insecticide (généralement exprimée en $\mu g/cm^2$). Pour cela nous plaçons sur le fond des boîtes de Petri bien planes, des disques de papier filtre d'un diamètre exactement approprié (de marque Selecta n° 589[2]) et les imprègnons avec une solution acétonique titrée de l'insecticide. Un cm^3 de solution suffit pour imbiber entièrement le papier, et laisse après évaporation du solvant une quantité connue de toxique uniformément répartie. Connaissant la surface du papier filtre et la concentration et le volume de la solution utilisée, la dose s'exprime ici en $\mu g/cm^2$ ou dose par unité de surface (1).

Après évaporation du solvant, on place dans ces boites de Petri les mouches préalablement anesthésiées, par lot de 20 à 25 individus. Les pourcentages de mortalité sont évalués après 24 h. de séjour dans une étuve à test, dont les conditions de température, d'hygrométrie et d'éclairement demeurent rigoureusement constantes.

Les tests par microgouttes ont été réalisés à l'aide d'une seringue micrométrique « Agla », munie d'un embout en verre, coudé à angle droit et effilé, qui permet de délivrer régulièrement des microgouttes de $1mm^3$ avec une précision de $\pm$ 2 p. 100.

Les insecticides étaient toujours dissous dans de l'acétone pure et dans la majorité des tests que nous citons dans ce travail, la dose appliquée correspondait à des gouttes d'un volume de 4 mm^3. Les microgouttes ont toujours été déposées dorsalement, dans la région collaire, l'insecte anesthésié étant tenu par une aile à l'aide d'une pince fine.

La nature du solvant, utilisé pour dissoudre la matière active, a une importance primordiale dans cette technique, car son action propre interfère avec celle de la substance toxique.

La plupart des travaux de toxicologie des insecticides ont été effectués avec l'acétone, le benzène et le kérosène. Les inconvénients

(1) Nous dénommons plus précisément cette méthode : tests « mortalité-concentration ».

et les avantages respectifs de ces divers solvants ont été discutés par divers auteurs, en particulier Busvine (1951), Barker et Rawhi (1957), Barker et Edmunds (1958), Oppenoorth et Dresden (1958).

Busvine fut le premier a remarquer que les DL 50 obtenues pour le D.D.T., chez *Musca domestica*, différaient fortement selon qu'elles étaient déterminées à partir de solutions dans l'acétone ou dans l'huile de pétrole (kérosène très purifié — huile Risella de Shell par exemple). Il obtenait avec une souche sensible et une souche résistante de Sardaigne les résultats suivants :

Solvant	Témoin	DL 50 en µg/♀ Souche résistante	Coefficient de résistance
Huile de pétrole . .	0,44	7,2	16
Acétone	0,12	36	300

Ces écarts considérables montrent l'importance que revêt le choix du solvant dans la pratique des tests. Busvine a tenté de donner une explication de telles différences en les rapportant à la volatilité supérieure de l'acétone par rapport au kérosène (1).

Toutefois, à l'opposé de Busvine, Barker et Rawhi (1957) ont observé qu'avec des solutions acétoniques de D.D.T., la DL 50 pour une souche sensible était 4,2 fois supérieure à celle déterminée avec des solutions dans le kérosène. Ces auteurs ont constaté une différence similaire pour une souche résistante. Paradoxalement, la quantité d'insecticide ayant traversé le tégument est supérieure pour les solutions acétoniques de D.D.T.! Dans ces conditions Barker et Edmunds (1958) envisagent l'éventualité d'un effet de synergisme entre le kérosène et le D.D.T. En outre, ces auteurs concluent qu'il existe une dose critique, au-dessus de laquelle le pétrole provoque une mortalité supérieure à l'acétone.

(1) Pour de fortes concentrations, il n'y aurait plus de proportionnalité entre les doses appliquées et celles réellement absorbées par le tégument de l'insecte, car l'évaporation du solvant conduit à la formation de cristaux de D.D.T. beaucoup plus volumineux que pour les faibles concentrations. Ces cristaux d'insecticides s'accrochent aux macrochètes et ne sont plus en contact direct avec le tégument, ce qui diminue d'autant la dose réellement en contiguité avec la cuticule. Busvine considère en outre que le pétrole favorise l'absorption de l'insecticide, car il constitue une phase liquide plus persistante sur la surface tégumentaire, ce qui accroît beaucoup la diffusion du toxique.

Oppenoorth et Dresden (1958) ont fait remarquer que 1µl de kérosène, volume souvent utilisé dans les tests par microgouttes, déterminent des anomalies de comportement chez les mouches intoxiquées. Celles-ci deviennent incapables de voler et tiennent leurs pattes en position aberrante. Bien que le témoin traité avec le même volume de solvant sans insecticide ne présente pas de mortalité après 24 h., il est évident que de tels effets nocifs modifient les résultats des tests et que la toxicité d'un solvant de ce type n'est pas négligeable. Ajoutons que la très faible tensio-activité du kérosène lui permet de s'étaler largement à la surface du tégument et l'éventualité d'une pénétration par les orifices stigmatiques, déterminant l'obturation des trachées, n'est pas exclue.

Nous considérons que les avantages du benzène et du kérosène (plus faible volatilité, donc précision accrue sur le volume administré, meilleure répartition et contact supérieur avec le tégument) sont fortement atténués par leur toxicité et leur plus grande solubilité dans les lipoïdes cuticulaires, ce qui pertube certainement la pénétration de l'insecticide. Nous avons donc choisi l'acétone comme solvant en compensant sa volatilité par l'administration de microgouttes plus volumineuses (4 mm^3) ce qui diminue l'erreur sur le volume, dûe à l'évaporation du solvant (1).

Les mouches ont été intoxiquées en déposant la solution titrée d'insecticide à la jonction cephalo-thoracique dorsale, au niveau collaire. La microgoutte s'étale largement sur la surface de la tête et du thorax, ce qui assure une répartition plus homogène du toxique. L'acétone est d'une toxicité plus faible car des mouches ayant été traitées par des gouttes de 6 mm^3 d'acétone pure ne présentent aucune mortalité après 24 h. et leur comportement ne semble pas modifié.

Nous n'avons pas utilisé la technique des injections, très laborieuse, qui ne permet de traiter qu'un nombre restreint d'individus. De plus, elle ne donne pas une représentation fidèle de la toxicité d'un insecticide de contact et ne permet pas de déceler l'existence éventuelle de facteurs de résistance liés aux processus d'une péné-

(1) En réalité, l'usage de gouttes d'un tel volume et la rapidité d'exécution du test rendent négligeable l'évaporation en tant qu'élément d'erreur dans la concentration de toxique administrée.

tration lente et progressive de l'insecticide à travers le tégument.

En conclusion, les tests par microgouttes sont assez précis car on connait la dose réellement administrée à chaque insecte, mais elle ne donne pas une valeur absolue de l'efficacité du produit, puisque le solvant conditionne le taux d'absorption du poison. Elle présente en outre l'inconvénient de n'être réalisable que sur un nombre relativement faible d'individus (50 à 100 pour chaque dose, dans la plupart de nos tests).

Les tests par contact tarsal sur papier filtre imprégné d'insecticide présentent l'avantage d'être fort proches des conditions normales d'utilisation de ces toxiques. De plus, on peut les pratiquer sur un grand nombre de mouches à la fois, car ils sont rapidement exécutés. Ils sont, à l'inverse des tests par microgouttes, entachés d'une certaine imprécision concernant la dose individuellement absorbée. Ils exigent en effet certaines précautions, destinées à uniformiser les conditions de fréquence et de durée des contacts tarsaux des mouches avec la surface traitée (cf. plus loin). Nous avons surtout utilisé cette technique pour établir les courbes mortalité-temps et c'est à ce propos que nous allons en décrire en détail les conditions de réalisation.

2° *Tests « mortalité-temps »*.

Nous avons mis au point en collaboration avec Mr le Professeur P. Pesson (P. Pesson et F. Ramade 1959) une méthode originale de tests. Il s'agit d'un procédé photographique, qui permet d'enregistrer la mortalité à des intervalles de temps constant (de une minute à une heure) sur un grand nombre d'individus à la fois.

Les mouches sont placées dans les mêmes boîtes de Petri que pour les tests « mortalité-dose » par contact tarsal, avec un papier filtre imprégné d'une concentration connue d'insecticide, mais ici, les boîtes sont disposées verticalement sur un support approprié.

Après un certain temps de latence, et au fur et à mesure que progresse la phase choréo-ataxique de l'intoxication (incoordination locomotrice), les mouches se maintiennent de plus en plus difficilement sur les parois verticales du papier filtre et finissent par

tomber au bas de la boîte, où elles demeurent définitivement dès qu'elles ont atteint le stade clonique ou « knock-down » (1)

En photographiant l'ensemble des boîtes de Petri à intervalles de temps réguliers, il est facile de dénombrer, à tout moment, le nombre d'insectes normalement actifs (bien visibles sur le fond blanc de papier de la boîte de Petri) et d'en déduire la proportion des insectes « knock-down » en fonction du temps (2). Les chiffres relevés dans ces tests « mortalité-temps » représentent donc en réalité les pourcentages d'individus « knock-down ». Mais, comme dans le dispositif utilisé le contact avec le toxique est permanent, ce stade est irréversible et la mort survient toujours dans un délai régulier. La mortalité est donc estimée par référence à son stade antérieur de l'intoxication, avec lequel elle est associée de façon constante. D'ailleurs, l'examen des clichés successifs, pris à intervalles de temps rapprochés, permet de vérifier l'irréversibilité du « knock-down » et donc justifie que cette phase caractéristique puisse être prise comme base d'évaluation du temps léthal. Il convient d'ailleurs de souligner qu'il est beaucoup plus précis d'évaluer le temps léthal d'après le « knock-down » irréversible, que d'après les symptômes de mort réelle, car, comme nous l'avons précisé antérieurement, la mort apparente est difficile a différencier de la mort réelle.

Dans le premier dispositif utilisé (P. Pesson et F. Ramade, 1959), les boîtes de Petri étaient placées sur un support en bois, incliné à 80° par rapport à l'horizontale, et disposées sur trois rangs. Les prises de vue étaient réalisées à l'aide d'un appareil reflex équipé d'un téléobjectif de 135 millimètres de focale, diaphragmé à 11, et placé à 2,5 m du support. L'éclairage était produit par des éclairs de flash électronique émis par deux réflecteurs paraboliques à facette, écartés de 60 centimètres et placés à 2 mètres de l'objet selon un angle convenable pour éviter des reflets sur les couvercles des boîtes de Petri. Cette méthode présentait plusieurs inconvénients. L'opérateur devait être constamment présent pour prendre un cliché tous les quarts d'heure, ce qui de plus interdisait une prise de vue prolongée pendant 24 heures. Il était aussi difficile d'éli-

(1) Les auteurs anglo-saxons désignent sous ce terme un stade des processus d'intoxication par les insecticides caractérisé par une incoordination motrice, qui rend l'insecte incapable de se tenir sur ces pattes (cf. 1re partie). Cette phase est partiellement réversible si le contact est interrompu assez tôt, sinon, elle est plus ou moins rapidement suivie par une paralysie générale et la mort survient infailliblement. Tel est le cas, en particulier des tests en boîte de Petri où le contact est permanent.

(2) Il est très facile, en effet, de dénombrer avec une précision rigoureuse le nombre de mouches survivantes sur un cliché projeté ou tiré à agrandissement convenable.

miner totalement les reflets parasites sur les couvercles des boîtes de Petri et surtout, le comportement des mouches n'était pas homogène, certaines se déplaçant très souvent sur le couvercle et évitant plus ou moins le contact avec l'insecticide.

Une amélioration de la technique (P. Pesson) a consisté à disposer les boîtes-tests dans une étuve spéciale, dont une paroi en verre opale était fortement éclairée de l'extérieur (tubes fluorescents). Les boîtes de Petri sont disposées sur des règlettes en matière transparente, contre cette paroi éclairée. Les mouches qui ont un phototropisme fortement positif, se tiennent alors en permanence sur le papier filtre, qui laisse passer une certaine lumière. Leur contact avec le toxique, est ainsi plus régulier et plus constant.

Sur le côté de l'étuve (fig. 14), à l'opposé de cette paroi lumineuse, est disposé un appareil photographique Robot, muni d'un objectif de 40 mm de focale (ouverture de 2,8) et diaphragmé à 5,6, Les prises de vue s'effectuent au 1/40e de seconde. Cet appareil permet la réalisation automatique de 320 vues sans rechargement. A cet effet, il est relié à un moteur synchrone muni d'un dispositif de temporisation automatique, qui permet des prises de vue à des intervalles de temps allant de 1 seconde à 24 heures. D'une façon générale nos tests portaient sur 12 à 18 boîtes de Petri, contenant chacune 25 mouches; les prises de vues étaient réalisées toutes les 15 ou 20 minutes et s'étalaient sur 6 à 24 heures, selon les cas.

L'étuve à test-insecticide comporte en outre un dispositif qui assure une stabilisation de la température à 20°C ± 0,25° et l'hygrométrie à 65 p. 100 (à 2,5 p.100 près). Elle est placée dans une chambre froide, dont la climatisation est ajustée à 18°C ± 1°C, de sorte que son dispositif thermostatique n'intervient que dans d'étroites limites d'autant que les parois de l'étuve sont bien calorifugées avec de la laine de verre et de la mousse de polystyrène. Le principe de la régulation thermique, fort simple, consiste à aspirer l'air de l'étuve

Fig. 14. — Étuve à tests insecticides (selon P. Pesson). 1, appareil photographique robot à répétition automatique; 2, relai temporisateur; 3, transformateur; 4, sonde thermostatique; 5, cuve à eau; 6, déflecteur; 7, parois isolantes en mousse de polystyrène; 8, clayonnage; 9, support des boîtes de Petri; 10, verre opalin; 11, tubes fluorescents; 12, résistance chauffante sous-voltée; 13, turbine aspirante; 14, fenêtre d'observation; 15, fenêtre de prises de vues.

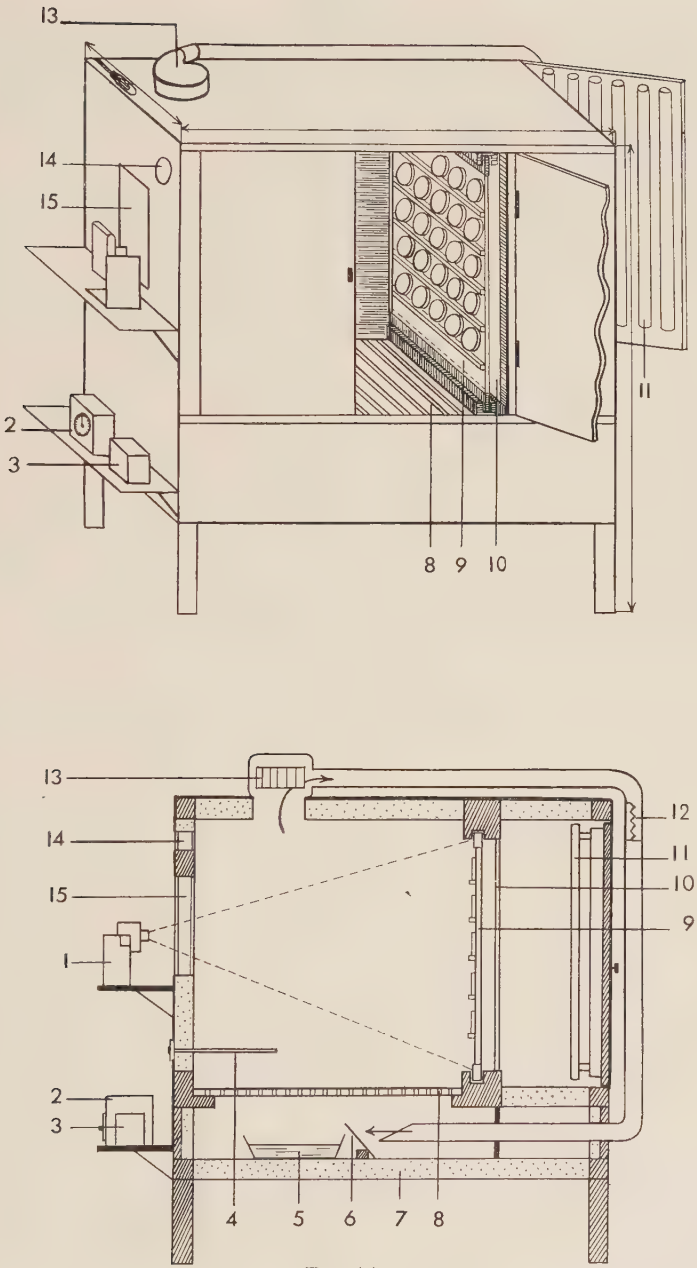


Fig. 14

avec un ventilateur aux pales inversées, à le réchauffer et à le réinjecter dans celle-ci. Le passage de l'air chaud au-dessus d'un bac rempli d'eau permet du même coup de stabiliser l'hygrométrie à la valeur choisie. L'air est aspiré à la face supérieure de l'étuve et refoulé à la partie basse par un tuyau en matière plastique de 7 cm de diamètre. Dans la partie du tuyau extérieure à l'étuve (cf. fig. 14) est placée, coaxialement, une résistance chauffante de 300 watts, sous-voltée, commandée par un thermostat. Celle-ci réchauffe l'air circulant lorsque la température de l'étuve tombe au-dessous du seuil présélectionné. L'air chaud débouche à la partie inférieure de l'étuve au niveau d'un bac rempli d'eau. Un déflecteur en bois permet de dévier à volonté le flux au-dessus de la surface de l'eau, ce qui donne une possibilité de faire varier l'hygrométrie dans certaines limites.

Il existe en outre dans l'étuve un support horizontal à clairevoie placé au-dessus de la cuve à eau sur lequel on peut disposer un thermo-hygromètre enregistreur ou des boîtes de Petri renfermant des insectes intoxiqués par la méthode des microgouttes.

C. — Analyse statistique des résultats des tests

Les méthodes de test, décrites ci-dessus, conduisent à l'obtention d'une série de chiffres expérimentaux qui traduisent la relation mortalité-dose (avec un temps constant) ou mortalité-temps (avec une dose constante).

Les valeurs numériques obtenues permettent de tracer empiriquement les diagrammes approchés, à partir desquels on cherche à définir la relation entre E (y), espérance mathématique du taux de mortalité, et la dose x (à temps constant) ou le temps t (à dose constante). Les diagrammes empiriques ne permettraient pas, si ce n'est avec une forte erreur, de tirer des conclusions valables sur le plan quantitatif, ou d'effectuer des comparaisons entre les diverses expériences. Pour exploiter pleinement ces résultats il est indispensable de recourir à une méthode statistique, qui permet, d'une part, de tracer la courbe la plus vraisemblable à partir des données numériques expérimentales et, d'autre part, d'évaluer le

degré de signification du test. Cela peut être réalisé par l'usage de la transformation de probit.

L'emploi de cette transformation en toxicologie fut introduit par Gaddum (1933) et Bliss (1935). Les principes de cette méthode, tels que nous les résumons ici, ont été essentiellement empruntés aux ouvrages de Sheppard (1947) et surtout de Mather (éd. française, 1965). De plus, nous nous sommes rapportés aux travaux de Hoskins (1957, 1960) et Hoskins et Craigg (1962) qui ont détaillé l'application de cette méthode à l'étude de la résistance aux insecticides.

La représentation directe en échelle arithmétique des pourcentages de mortalité y_i en ordonnée et des doses x_i en abcisse conduit à des courbes d'allure sigmoïde d'une manipulation difficile qui se prêtent mal à l'estimation de la DL 50.

On a recherché des transformations de variable et de fonction $z = g(y)$ et $u = h(x)$ telles que $z = k(u)$, soit une fonction dont la courbe représentative est la plus simple possible, au mieux une droite.

La transformation de probit est fondée sur l'hypothèse admise par la plupart des auteurs que, si l'on considère une population suffisamment grande et homogène, les fréquences des doses léthales individuelles sont réparties sur une courbe de densité de variable normale bien connue des biologistes sous le nom de courbe en cloche de Gauss (voir fig. 15).

Ceci s'exprime en écrivant que la relation entre l'espérance mathématique de la proportion de morts que nous noterons E (y), et la dose x est de la forme :

$$x \longrightarrow \mathrm{E}\,(y) = \pi\left(\frac{(x - \mu)}{\sigma}\right) \qquad (1)$$

où π est la fonction de répartition de la loi normale réduite.

$\pi\left(\frac{(x-\mu)}{\sigma}\right)$ est donc entièrement définie par les deux paramètres μ et σ.

La courbe représentatrice des points x, E(y) est appelée sigmoïde.

Si nous remplaçons E (y) par la variable z définie par :
$\pi(z) = \mathrm{E}\,(y)$ nous pouvons écrire :

$$x \longrightarrow \mathrm{E}\,(y) = \pi\left(\frac{(x - \mu)}{\sigma}\right) = \pi\,(z) \qquad (2)$$

Comme la fonction π est strictement croissante et donc ne prend pas deux fois la même valeur, on a :

$$z = \frac{x - \mu}{\sigma} \qquad (3)$$

La relation (3) est une relation linéaire et donc beaucoup plus facile à déterminer et à étudier.

Ce sont de nombreuses études antérieures qui ont permis de voir que les insecticides de synthèse conduisaient après une transformation du type précédent appelée transformation de probit (fig. 15 B) à des relations $z = h(u)$ linéaires (u étant une fonction de x).

La théorie de la régression linéaire permet alors de déterminer la droite qui s'ajuste au mieux avec les points de coordonnées (u_i, z_i).

Remarque : Pour éviter les signes négatifs pour les proportions de morts inférieures à 0,5 Bliss a ajouté 5 aux écarts normaux de la variable normale réduite. Dans ces conditions les probits inférieurs à 5 correspondent à une mortalité inférieure à 50 p. 100.

Fig. 15. — Principes de la transformation de probit. La figure *A* représente la courbe de répartition des doses léthales individuelles, la figure *B* le double changement de variable et de fonction qui permet de transformer la courbe de répartition des proportions de morts (ou des pourcentages de mortalité) qui est une sigmoïde en une droite *ld-p*. L'expérience montre qu'en faisant le changement de variable $u = h(x)$ où u est la fonction logarithme, les fréquences des doses léthales individuelles sont réparties sur une courbe de densité de variable normale (bien connue des biologistes sous le nom de courbe en cloche de Gauss). Pour chaque dose expérimentale x_k correspond un point de cette courbe normale d'abscisse α_k tel qu'une parallèle à l'axe des y menée par ce point, la courbe et l'axe des abscisses délimite une aire qui représente la proportion de morts observée, intégrale de la courbe normale entre $-\infty$ et α_k. La surface totale comprise entre la courbe et l'axe des abscisses représente l'effectif complet de la population. Cette surface n'est autre que la valeur de la fonction dont la courbe représentative est une sigmoïde. Le probit correspondant à la proportion de morts observée, y_k a pour valeur $z = \alpha_k + 5$, Bliss ayant ajouté 5 aux écarts normaux pour éviter les signes négatifs pour les pourcentages de mortalité inférieurs à 50 p. 100. z correspond en quelque sorte à une dose théorique supposée provoquer dans la population de morts y_k identique à celle déterminée par la dose x_k réellement employée. L'exemple numérique choisi pour illustrer cette figure est celui d'un test pratiqué sur la souche S (I.N.A.). La dose de 0,05 µg a provoqué la mort de 43 mouches sur 60 individus traités, soit 71,7 p. 100 de mortalité (ou une proportion de morts de 0,717). Cette proportion correspond à la surface non hachurée comprise entre la courbe normale et l'axe des x, délimitée par une parallèle à l'axe des y menée par un point d'abscisse $z = 5{,}573$, probit correspondant au pourcentage de mortalité observée. La flèche reliant ce point et la figure *B* symbolise la transformation de probit. En effet, la valeur $z = 5{,}573$ va être portée en ordonnée de la courbe transformée à la place du pourcentage de mortalité tandis qu'en abscisse la dose sera remplacée par son logarithme (0,6988, la dose ayant été multipliée par 100 pour éviter une caractéristique négative).

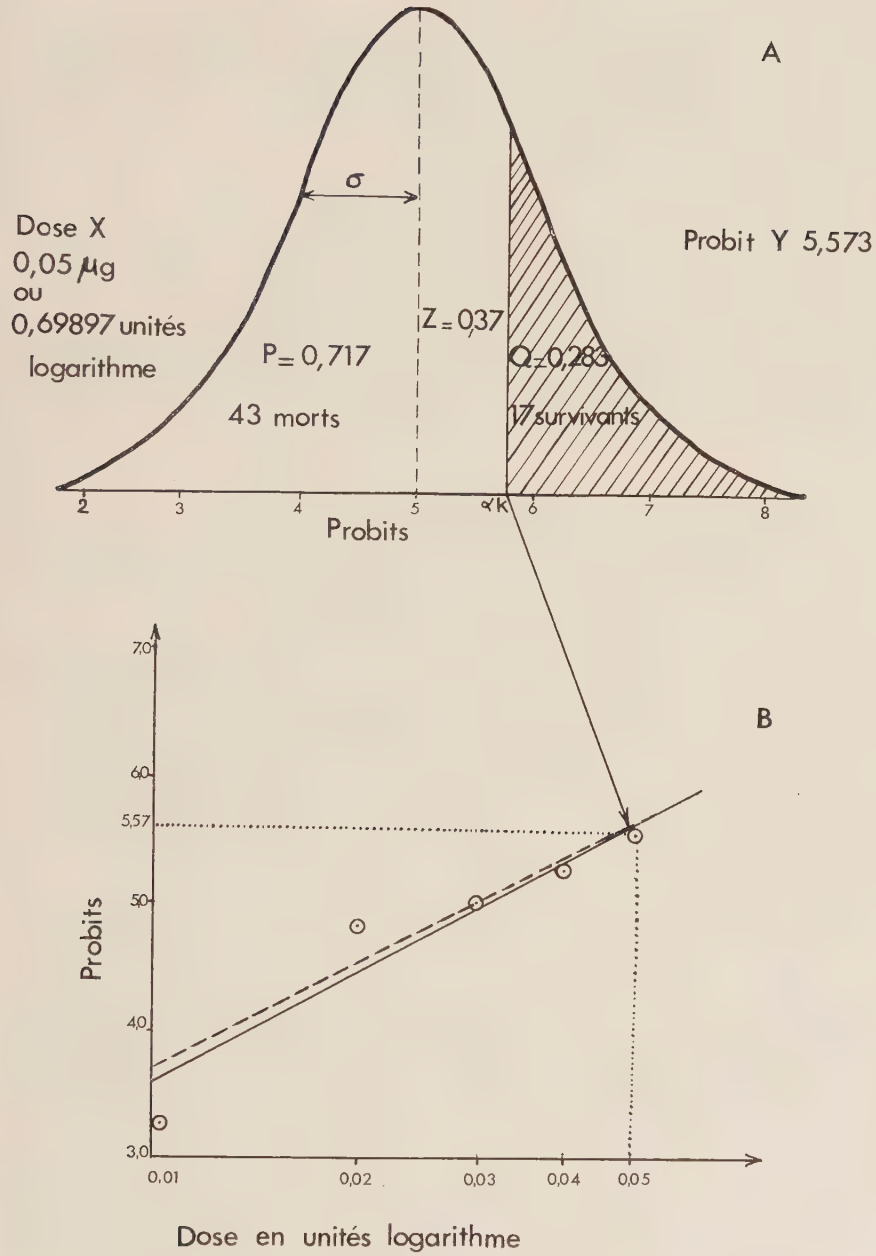

A
σ
Dose X
0,05 µg
ou
0,69897 unités
logarithme
Probit Y 5,573
Z = 0,37
P = 0,717
43 morts
Q = 0,283
17 survivants
2
3
4
5
αk
6
7
8
Probits
B
7,0
6,0
5,57
5,0
4,0
3,0
Probits
0,01
0,02
0,03
0,04
0,05
Dose en unités logarithme

Fig. 15

En toxicologie, une difficulté supplémentaire est survenue par suite du fait que les doses léthales individuelles ne sont pas normales. Des études antérieures ont montré que, par contre, la variable $u = h(x)$ ou h est la fonction logarithme, conduit à des relations :

$$u \to \mathrm{E}(y) = \pi\left(\frac{(u - m)}{\sigma}\right)$$

Dans notre étude, nous ferons donc un double changement de variable et de fonction pour arriver à des fonctions $u \to z$ linéaires, dont les droites représentatives ont été dénommées par Hoskins droites ld-p (logarithme de la dose-probit). On peut de la même façon, établir des droites de régression traduisant la mortalité en fonction du temps, droites *lt-p* ou logarithme du temps-probit.

A. — *Calcul de l'équation de la droite* ld-p

Les techniques de la régression linéaire permettent de tracer la droite qui s'ajuste au mieux avec les points expérimentaux transformés et de calculer son équation. Remarquons que la nature même des tests toxicologiques permet de se placer dans un type d'analyse de régression relativement simple, puisque une des variables, la dose ou le temps étant supposé contrôlé dans l'expérience, perd son caractère de variable aléatoire, si bien que seule la régression de la variable aléatoire par rapport à la variable contrôlée doit être envisagée.

B. — *Rappel sur les régressions linéaires*

Il est heureusement assez fréquent en biologie que les séries de couples de valeurs, obtenues pour deux grandeurs présentant une corrélation, conduisent à une relation $y = f(x)$ linéaire. La théorie de la régression linéaire est donc très importante puisque la transformation de probit conduit précisément à une telle régression (1). Les statisticiens ont démontré que dans ce cas, le calcul de l'équation de la droite théorique ne présente aucune difficulté et qu'elle est de la forme :

$$\mathrm{Y} = \bar{y} + b_{y/x}\,(x - \bar{x})$$

où $\bar{y}$ et $\bar{x}$ représentent la moyenne des valeurs expérimentales et $b_{y/x}$ en un paramètre, dénommé coefficient de régression de y en x. Ce paramètre

(1) Cf. Lamotte, Initiation aux méthodes statistiques en biologie Masson éd., 1962.

se calcule facilement à partir des n couples de valeurs expérimentales (x_k, y_k). On démontre en effet que

$$b_{y/x} = \frac{\sum (x_k - \bar{x})(y_k - \bar{y})}{\sum (x_k - \bar{x})^2}$$

Cette expression peut s'écrire en faisant le produit par $\frac{1}{n}$ du numérateur et du dénominateur

$$b_{y/x} = \frac{\frac{1}{n}\sum (x_k - \bar{x})(y_k - \bar{y})}{\sum (x_k - \bar{x})^2}$$

On voit apparaître au dénominateur la variance des x que nous exprimerons par σ^2_x, carré de l'écart-type.

d'où l'on déduit : $b_{y/x} = \frac{\frac{1}{n}\sum (x_k - \bar{x})(y_k - \bar{y})}{\sigma^2 x}$

Le numérateur constitue un paramètre, dénommé covariance (p), de sorte que le coefficient de régression s'écrit finalement sous la forme

$$b_{y/x} = \frac{p}{\sigma^2 x}$$

Nous venons de voir que dans le cas général, on démontre que le cœfficient de régression $b_{y/x}$ se calcule facilement à partir des n couples de valeurs expérimentales, mais ici intervient une difficulté supplémentaire, due à ce que la variance d'un probit dépend de la proportion de morts.

On conçoit donc qu'il s'impose de pondérer les probits dans le calcul de la droite de régression, puisque l'erreur qui les affecte est minimale pour $y = 5$ (50 p. 100 de mortalité) et s'accroit symétriquement lorsque l'on s'écarte de cette valeur. Par ailleurs il faut logiquement s'attendre à ce que l'estimation d'un probit soit d'autant plus valable que le nombre d'individus testés pour la dose considérée est plus élevé..

Toutes ces considérations conduisent à faire intervenir dans le calcul de la droite de régression un probit auxiliaire y_w et un cœfficient de pondération w, par lequel il faudra le multiplier, pour établir les paramètres caractéristiques de la droite.

La théorie du maximum de vraisemblance permet de démontrer que le probit auxiliaire y_w est lié au probit Y, que l'on déduit

directement des proportions de morts expérimentales par les expressions :

$$y_w = Y + \frac{Q}{Z} - \frac{s}{n} \times \frac{1}{Z} = Y + \frac{Q}{Z} - \frac{q}{Z} \quad (4) \; (n' Y > 5)$$

$$y_w = Y - \frac{P}{Z} + \frac{n-s}{n} \times \frac{1}{Z} = Y - \frac{P}{Z} + \frac{p}{Z} \quad (4') \; (n' Y < 5)$$

Dans ces relations, P et Q sont les probalités de mort et de survie pour les doses testées correspondant au probit Y, et Z, l'ordonnée du point de la courbe normale correspondant au probit Y, p et q les proportions de morts et de survivants réellement observées pour cette dose, avec s survivants sur n individus testés.

Il faut de plus affecter le probit auxiliaire, correspondant à chaque dose, d'un cœfficient de pondération auquel la théorie donne la valeur :

$$w = n \frac{Z^2}{PQ} \qquad (5)$$

Les paramètres y, Y, $Y - \frac{Q}{Z}$, $Y + \frac{P}{Z}$, $\frac{1}{Z}$ et $\frac{Z^2}{PQ}$ se trouvent directement dans les tables de Fisher et Yates (tables IX, 1 et 2, pages 71). La première de ces tables fournit les probits y, correspondant aux proportions de morts observées, et la seconde indique les autres paramètres à partir du probit théorique Y. Cependant, il faut au préalable, pour entrer dans la table IX, 2, déterminer à partir des points expérimentaux le probit théorique Y, lequel diffère du probit expérimental y. C'est pour cela que l'on trace une droite de régression empirique à vue (ou droite provisoire) afin de posséder les hypothèses nécessaires pour entrer dans les tables de Fisher. Il suffit pour cela de lire directement sur cette droite, par une évaluation graphique, les valeurs (à vue) correspondant à chaque dose (fig. 16).

Remarque : Il arrive que le témoin présente une mortalité naturelle. Dans ce cas, on est obligé de corriger les proportions de morts selon la formule d'Abbott : $p = \frac{x-a}{n-a}$ où x désigne la mortalité observée chez les insectes intoxiqués, a, celle du témoin et n le nombre d'individus testés. Les tables de Fisher donnent par ailleurs les cœfficients

de pondération, corrigés pour les diverses mortalités observées dans le témoin non traité.

Tracé de la droite de régression empirique. Il se réalise à partir des données expérimentales en déterminant à vue la droite qui semble s'ajuster au mieux avec les divers points du diagramme. Il est très important d'élaborer avec soin une telle droite car de

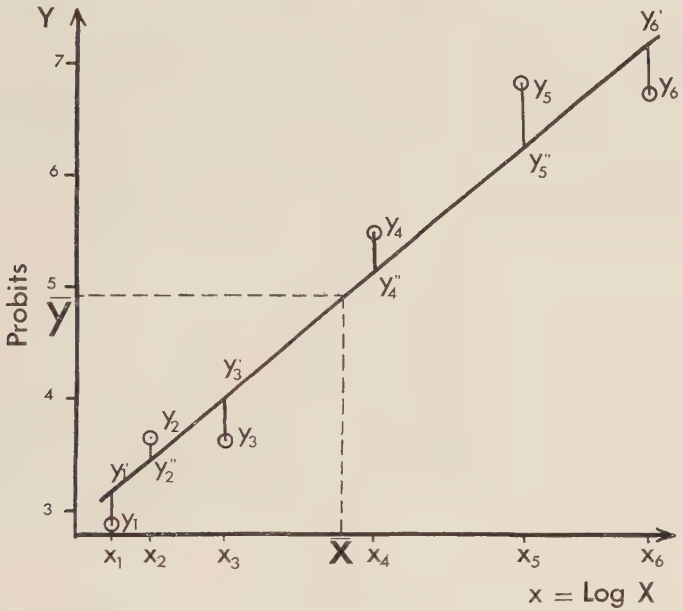


Fig. 16. — Tracé à vue de la droite de régression. La droite empirique passe obligatoirement par le point moyen de coordonnée ($\overline{X}$, $\overline{Y}$). La meilleure droite à vue est celle pour laquelle la somme des écarts des points situés au-dessous de la droite empirique est égale à celle des points situés au-dessus.

son exactitude dépend la rapidité des calculs ultérieurs. Le tracé de cette droite est obtenu par la méthode des moindres carrés.

On calcule tout d'abord le point moyen de la droite de régression, lequel a pour coordonnées (fig. 16) :

$$X = \frac{\sum x_k}{n}$$

$$Y = \frac{\sum y_k}{n}$$

où n est le nombre de couples de valeurs. On fait ensuite pivoter une règle autour de ce point jusqu'à ce que l'on trouve une droite acceptable, c'est-à-dire telle que la somme des écarts des points expérimentaux situés au-dessus et au-dessous de celle-ci satisfassent à la condition :

$$\Sigma \overline{yy}' = \Sigma \overline{yy}''$$

On lit ensuite, à vue, les probits théoriques Y, correspondant à chaque dose.

Équation de la droite de régression théorique. Elle se calcule selon les mêmes principes que les régressions linéaires (cf. plus haut), en pondérant chaque point d'un cœfficient w (ce qui est l'équivalent de l'observer w fois, chaque observation ayant un poids unitaire).
De cette façon, les coordonnées du point moyen deviennent :

$$\begin{cases} \widehat{y}_w = \dfrac{\Sigma w y_w}{\Sigma w} \\ \widehat{x} = \dfrac{\Sigma w x}{\Sigma w} \end{cases} \qquad (6)$$

L'équation de la droite de régression a pour expression, par analogie avec la régression non pondérée, $Y = \widehat{y}_w + b\,(x - \widehat{x})$ (7)

où

$$b = \frac{\Sigma\,[w y_w (x - \widehat{x})]}{\Sigma\,[w (x - \widehat{x})^2]} \qquad (8)$$

Les sommes de carrés et de produits se calculent plus rapidement si on transforme leur expression. Ainsi :

$$\Sigma\,[w (x - \widehat{x})^2] = \Sigma\,(w x^2) - \frac{\Sigma^2 (w x)}{\Sigma w} \qquad (9)$$

de même

$$\Sigma\,[w\,(y_w - \widehat{y}_w)^2] = \Sigma\,(w y_w^2) - \frac{\Sigma^2 (w y_w)}{\Sigma w} \qquad (9')$$

et

$$\Sigma\,[w y_w\,(x - \widehat{x})] = \Sigma w x y_w - \frac{\Sigma w x \,\Sigma w y_w}{\Sigma w} \qquad (9'')$$

L'équation de la droite de régression établie, il faut rechercher si elle représente bien les données. Pour cela, on doit comparer les expressions :

$\sum [w (y_w - y_w)^2]$ (8′) (somme des carrés des écarts des probits avec la moyenne théorique) et $\frac{\sum^2 w y_w (x - \widehat{x})}{\sum [w (w - \widehat{x})^2]}$ (10) (quantité dont est réduite la somme des carrés de y_w).

On démontre que ces expressions, de même que leur différence ou résidu, sont des χ^2. La droite trouvée est d'autant plus précise que la différence entre les expressions (8′) et (10) est plus faible. En principe, cette différence, ou χ^2 d'erreur, ne doit pas être significative. On vérifie cette proposition en posant que le χ^2 d'erreur (résidu) possède n degrés de liberté, où $n = N - 2$ avec N = nombre de doses testées, et en vérifiant la probabilité correspondante dans une table de χ^2.

Notons cependant que dans la pratique des tests, un χ^2 élevé ne conduit pas à rejeter la droite calculée si, en partant de nouvelles hypothèses, on n'arrive pas, par un second ou troisième calcul, à des résidus plus réduits. Dans ces cas-là, cela montre tout simplement que la population présente une hétérogénéité, due soit à des variations aléatoires (taille, âge ou sexe) ou à la présence d'individus sensibles et résistants en mélange.

C. — *Calcul de la DL 50 et de l'écart-type*

A la dose provoquant 50 p. 100 de mortalité correspond un probit Y = 5. On déduit facilement de l'équation (7).

$$\text{Log. DL } 50 = \widehat{x} + \frac{5 - y_w}{b} \qquad (11)$$

La théorie de Fisher, sur l'estimation et le maximum de vraisemblance, montre que la quantité d'information (I_x pour les doses) est une grandeur variant en sens inverse de la variance.

Ainsi, dans une droite de régression pondérée :

$$I_x = I_y \left(\frac{dy}{dx}\right)^2 \quad (12) \qquad \text{et} \qquad V_x = V_y \left(\frac{dx}{dy}\right)^2 \quad (13)$$

comme $\frac{dy}{dx}$ n'est autre chose que b pente de la droite de régression, $V_x = \frac{1}{b^2} V_y$ qui estime la variation du probit en fonction de la dose.

En remplaçant V_y par son expression, on en déduit :

$$V_x = \frac{1}{b^2}\left[\frac{1}{\Sigma w} + \frac{(x - \hat{x})^2}{\Sigma [w (x - \hat{x})^2]}\right] \qquad (14)$$

d'où la variance de la DL 50

$$V_{DL\,50} = \frac{1}{b^2}\left[\frac{1}{\Sigma w} + \frac{(\log DL\,50 - \hat{x})^2}{\Sigma [w (x - \hat{x})^2]}\right] \qquad (15)$$

et

$$\sigma_{DL\,50} = \sqrt{V_{DL\,50}} \qquad (16)$$

D) *Exemple de calcul par la méthode des probits.* Détermination de l'équation de la droite *ld-p* obtenue sur la souche sensible S. (I.N.A.) Les mesures ont porté sur des mouches ayant un âge moyen de 5 jours, après intoxication des insectes par microgouttes; les données obtenues pour chaque dose correspondent au cumul de résultats obtenus dans plusieurs tests; celles-ci sont réunies dans le taleau n° V.

1° *Calcul de la droite de régression à partir des données expérimentales* (tabl. IV, V et VI).

La transformation des doses en unités logarithme et des pourcentages de mortalité en probit permet de calculer les coordonnées au point moyen de la droite de régression non pondérée :

$$\bar{x} = 0{,}4158$$
$$\bar{y} = 4{,}7730$$

et d'établir la droite empirique tracée à vue, sur laquelle on lit les probits théoriques Y (à vue). Ainsi, nous trouvons sur le diagramme de la figure 15, qui correspond à ce test, que la dose 0,05 µg a donné un pourcentage de mortalité de 71,66 ce qui correspond à un probit expérimental de 5,573 et un probit à vue Y = 5,61.

On trouve dans la table IX, 2 de Fisher et Yates pour Y = 5,6 $Y + \frac{Q}{Z} = 6{,}4230$ et pour Y = 5,7 $Y + \frac{Q}{Z} = 6{,}4749$, d'où l'on déduit par interpolation linéaire pour Y = 5,61 $Y + \frac{Q}{Z} = 6{,}4282$.

On obtient en procédant de même $\frac{1}{Z} = 3{,}0211$ d'où

$$\frac{q}{Z} = (1 - 0{,}7166) \times 3{,}0211 = 0{,}85599$$

ce qui conduit finalement, pour le probit théorique à vue Y = 5,61, à un probit au'iliaire $y_w = 6{,}4282 - 0{,}85599 = 5{,}5722$,

puisque $y_w = Y + \frac{Q}{Z} - \frac{q}{Z}$ pour $Y > 5$

On trouve par ailleurs que, pour Y = 5,61, le coefficient de pondération $w = n \frac{Z^2}{PQ}$, où n est le nombre d'insectes testés pour la dose considérée, a pour valeur $w = 60 \times 0{,}55525 = 33{,}315$.

On détermine ainsi les y_w et les coefficients de pondération en procédant de la même façon et en tenant compte du fait que pour

$$Y < 5 \quad y_w = Y + \frac{P}{Z} - \frac{p}{Z} \qquad \text{(Tabl. II)}$$

Ces différentes valeurs permettent de calculer les sommes de carrés et de produits :

$\Sigma w = 162{,}88$ $\Sigma wx = 77{,}577$ $\Sigma wx^2 = 43{,}618$
$\Sigma wy_w = 813{,}71$ $\Sigma wy_w^2 = 4122{,}04$ $\Sigma wxy_w = 405{,}91$

l'équation de la droite *ld-p* s'écrit

$$Y = a + b\,(x - \bar{x}) \quad \text{où} \quad a = \bar{y}w$$

et

$$b = \frac{\Sigma[wy_w\,(x - \bar{x})]}{\Sigma[w\,(x - \bar{x})^2]}$$

Dans le cas étudié

$$\begin{cases} \bar{y}w = \dfrac{\Sigma wy_w}{\Sigma w} = 4{,}9963 \\ \bar{x} = \dfrac{\Sigma wx}{\Sigma w} = 0{,}47628 \end{cases}$$

représentant les coordonnées du point moyen de la droite *ld-p* pondérée.

$$\Sigma\, wy_w\,(x - \bar{x}) = \Sigma\, wxy_w - \frac{\Sigma wx\ \Sigma wy_w}{\Sigma w} = 405{,}91 - 387{,}60 = 18{,}31$$

$$\Sigma[w\,(x - \bar{x})^2] = \Sigma wx^2 - \frac{\Sigma^2 wx}{\Sigma w} = 43{,}618 - 36{,}948 = 6{,}67$$

ce qui donne finalement $b = 2{,}7442$.

L'équation de la droite de régression *ld-p* pour la souche S.I.N.A. devient

$$Y = 4{,}9963 + 2{,}7442\,(x - 0{,}47628)$$

2° *Calcul du* χ^2 *d'erreur.*

La quantité dont est réduite la somme des carrés a pour expression

$$\frac{\Sigma^2\,[wy_w\,(x - \bar{x})]}{\Sigma[w\,(x - \bar{x})]^2} = \frac{335{,}25}{6{,}67} = 50{,}26$$

la somme des carrés pour la régression a pour valeur

$$\Sigma\,[w\,(y_w - \bar{y}_w)]^2 = \Sigma w y_w^2 - \frac{\Sigma^2 w y_w}{\Sigma w} = 4122{,}04 - 4066{,}10 = 55{,}94$$

Le χ^2 d'erreur, ou résidu, est la différence entre ces deux expressions, soit

$$\chi^2 = 55{,}94 - 50{,}26 = 5{,}68$$

Le résidu correspond à 3 degrés de liberté puisque l'on a testé 5 doses. On trouve dans les tables de χ^2 qu'à 5,68 correspond un seuil de probabilité de 0,15 pour 3 d.l. Cette valeur du χ^2 relativement élevé est l'indice d'une légère hétérogénéité dans la population testée, ce qui s'explique par le fait qu'il s'agit, pour chaque dose, d'un cumul de mortalité obtenu sur plusieurs générations successives avec un nombre variable d'individus du même âge d'un test à l'autre.

3° *Calcul de la DL* 50 *et de l'erreur standard.*

Pour Y = 5,0, on déduit de l'équation de la droite *ld-p*

$$\text{Log DL } 50 = x + \frac{5{,}0 - a}{b} = 0{,}47628 + \frac{5 - 4{,}9963}{2{,}7442} = 0{,}47758$$

en tenant compte du fait que l'on a pris le logarithme du produit par 100 de chaque dose testée.

$$\text{DL } 50 = 0{,}0303\ \mu g/♀$$

La variance de la DL 50 est donnée par l'expression (15) :

$$\text{DL } 50 = \frac{b^2}{1}\left[\frac{\Sigma w}{1} + \frac{(\text{Log DL } 50 - \bar{x})^2}{\Sigma\,[w\,(x - \bar{x})^2]}\right]$$

En remplaçant les divers paramètres de cette expression par leur valeur numérique, nous trouvons DL 50 = 8,4 × 10^{-4} d'où l'on déduit l'écart-type σ DL 50 = $\sqrt{\text{V DL } 50} = 10\sqrt{8{,}4} \neq 0{,}029$.

Les limites de l'intervalle de confiance pour 95 p. 100 de sécurité sont déterminés par la formule DL 50 ± 2 σ soit 0,4776 ± 0,048 Unités logarithme. Ceci donne pour longueur de l'intervalle de confiance

$$0{,}027\ \mu g/♀ < \text{DL } 50 < 0{,}0335\ \mu g/♀$$

TABLEAU V

RÉSULTATS DE L'ANALYSE PROBIT D'UN TEST AU LINDANE EFFECTUÉ PAR LA MÉTHODE DES MICROGOUTTES SUR DES FEMELLES DE LA SOUCHE S (I.N.A.)

DOSE EN µg/♀	LOGARITHME DES UNITÉS DE DOSES (× 100)	MOUCHES		p	q	y	y	y_w	w	y
		testées	survivants	morts	survivants		(à vue)			(calculé)
0,05	0,69897	60	17	0,717	0,283	5,573	5,61	5,5722	33,315	5,607
0,04	0,60206	70	28	0,60	0,40	5,253	5,31	5,2526	43,017	5,341
0,03	0,47712	60	30	0,50	0,50	5,0	4,95	5,0001	38,127	4,998
0,02	0,30103	60	35	0,417	0,583	4,789	4,43	4,8213	33,888	4,515
0,01	0	50	48	0,04	0,96	3,249	3,56	3,3159	14,540	3,689

TABLEAU VI

Calcul des probits auxiliaires et des coefficients de pondération

Y (à vue)	p morts	q survivants	Y + Q /Z	Y — P /Z	1 /Z	p /Z	q /Z	y_w probit auxiliaire	$\frac{Z^2}{PQ}$	n (nombre d'individus testés)	$w = n\frac{Z^2}{PQ}$ Coefficient pondération
5,61	0,717	0,283	6,42819		3,0251		0,85601	5,5722	0,55525	60	33,315
5,31	0,6	0,4	6,30519		2,6313		1,0525	5,2527	0,61453	70	43,017
4,95	0,5	0,5		3,7437	2,5129	1,2564		5,0001	0,63546	60	38,127
4,43	0,417	0,583		3,5910	2,9528	1,2303		4,8213	0,56481	60	33,888
3,566	0,04	0,96		3,0346	7,0332	0,2813		3,3160	0,29079	50	14,540

TABLEAU VII

Calcul des sommes de carrés et de produits

Doses en µg /♀	x	x^2	wx	wx^2	wy_w	$y_w{}^2$	$wy_w{}^2$	wxy_w
0,05	0,69897	0,48856	23,286	16,276	185,63	31,049	1 034,39	129,75
0,04	0,60206	0,36247	25,899	15,592	225,95	27,590	1 186,84	136,03
0,03	0,47712	0,22764	18,191	8,679	190,64	25,001	953,21	90,95
0,02	0,30103	0,09062	10,201	3,071	163,38	23,245	787,72	49,18
0,01	0	0	0	0	48,21	10,995	159,88	0
Sommes			77,577	43,618	813,81		4 122,04	405,91

II. — LES CONCEPTIONS ACTUELLES SUR L'APPARITION DES SOUCHES RÉSISTANTES.

L'origine de la résistance aux insecticides de synthèse, plus particulièrement aux chloro-organiques demeure aujourd'hui encore de nature hypothétique malgré les nombreux travaux entrepris sur ce sujet fondamental.

Actuellement, la plupart des auteurs expliquent l'apparition des souches résistantes aux insecticides par la théorie de la préadaptation, que Milani (1959) résume parfaitement en ces termes : « la résistance... ne peut prendre naissance qu'à partir d'individus mutants ou de recombinants complexes de **rares gènes**, sous l'effet de la pression sélective ». Ainsi, selon ce concept, le phénomène résulterait de l'isolement de lignées mutantes préadaptées, sous l'influence du facteur sélectif que constitue le contact répété ou permanent avec le toxique. Ce dernier ne ferait donc que révéler des gènes latents, responsables des mécanismes physiologiques de la résistance, et préexistants dans certains individus de la population seuls aptes à survivre, tandis que la majorité d'entre eux, dépourvus de ces gènes, seraient progressivement éliminés. Ainsi, la pression sélective pourrait aboutir à l'isolement d'une population de plus en plus homogène quant aux gènes de résistance.

A l'opposé de cette conception purement génétique de l'origine de la résistance aux insecticides existe cependant une autre théorie selon laquelle les souches résistantes proviendraient, non point d'une sélection de rares mutants préadaptés, mais d'une postadaptation continue et progressive de *l'ensemble de la population*, résultant d'une *accoutumance* physiologique au toxique (cf. P. Pesson, 1960). Farouchement contestée par la plupart des généticiens spécialisés dans l'étude de la résistance aux insecticides, cette théorie a toutefois fait l'objet de quelques investigations expérimentales. Busvine, un des meilleurs spécialistes actuels de la résistance aux insecticides, rappelle dans une de ses récentes publications (1965), qu'il existe quelques travaux relatifs à l'existence de mécanismes postadaptatifs et que de nouvelles recherches s'imposeraient dans cette voie.

Avant d'exposer les résultats de nos propres investigations, il nous a semblé utile de résumer les principaux arguments et les critiques que l'on a avancés en faveur ou à l'encontre de ces deux conceptions.

A. — De l'existence d'une sélection génétique comme processus d'isolement des souches résistantes.

On a fait de nombreuses expériences de croisements entre souches sensibles et souches résistantes qui ont permis d'établir que le caractère « résistance » se comporte comme un caractère mendélien et qui ont conduit les expérimentateurs à préciser le nombre et la nature des gènes en cause.

Il existe actuellement une abondante littérature (1) relative à de tels travaux d'analyse génétique, portant sur plusieurs espèces d'insectes et sur de nombreux insecticides de synthèse. Aussi ne prendrons-nous en considération dans notre exposé que les références relatives au lindane sur lequel a porté l'essentiel de nos investigations et qui a fait l'objet de plusieurs publications très approfondies.

1° — *Analyse génétique de la résistance au lindane.*

Les premières recherches effectuées sur la génétique de la résistance au lindane-dieldrin ont été entreprises par Barbesgaard et Keiding (1955). Ces auteurs concluaient alors que la résistance de *Musca domestica* à ces composés était probablement de nature polygénique. Milani (1963) a fait appel à des souches marquées génétiquement (2) pour son étude de la résistance au D.D.T. et au lindane-dieldrin (3) chez *Musca domestica.* Une première souche, présentant

(1) On pourra consulter à ce sujet les mises au point de Brown (1959 et 1961), Milani (1959 et 1963), Busvine (1962) et Oppenoorth (1965).

(2) Ce type de recherches génétiques n'était réalisable — jusqu'à une date assez récente — que sur *Drosophila,* pour laquelle existaient déjà des cartes de chromosomes. Milani a eu le mérite de développer la génétique de *Musca domestica.* Depuis 1954, il s'est acharné à isoler des mutants de cette espèce. De nombreuses aberrations morphologiques furent ainsi mises en évidences. Elles portent essentiellement sur la nervation alaire, la chétotaxie, la couleur du tégument et des yeux. La carte chromosomique de ces différents gènes a été partiellement établie et les groupes de linkage sont actuellement bien connus. Parallèlement aux travaux de Milani, Tsukamoto

une résistance croisée au D.D.T. et au dieldrin (gène Kdr), associée au caractère corps brun (bwb), a fait l'objet de ce croisement avec une souche sensible. Les hybrides issus de ce croisement en F 1 ont subi les deux croisements en retour F1 × R et F1 × S. L'établissement des courbes ld-p pour les divers phénotypes obtenus a permis à Milani de conclure que le ou les facteurs, induisant la résistance au lindane-dieldrin dans la souche bwb-Kdr, étaient distincts du gène conférant la résistance au D.D.T. et portés par un autre chromosome. Milani a étudié une seconde souche également résistante au dieldrin et marquée génétiquement sur le 5e chromosome (Arcm, mutation aristipédie et carmin). La résistance de cette souche s'est avérée bifactorielle et causée par deux gènes non alléliques, portés l'un, par le 5e chromosome, l'autre par le chromosome sexuel.

Guneidy et Busvine (1964) ont entrepris l'étude de la génétique de la résistance au lindane-dieldrin chez *Musca domestica*. Ils ont utilisé la technique des croisements en masse, combinée aux croisements en retour des hybrides F1 avec les homozygotes RR ou ss. Les courbes ld-p obtenues en F2 (fig. 17, A et B) confirment l'existence d'une ségrégation mendélienne, selon les proportions 1-2-1. En effet, sur les courbes expérimentales apparaissent nettement deux inflexions, aux environs de 25 p. 100 et de 75 p. 100 de mortalité, ce qui correspond aux homozygotes et aux hétérozygotes résistants. Les croisements en retour avec des individus sensibles et résistants (fig. 17 C et D) conduisent à des courbes ld-p présentant une inflexion à 50 p· 100 de mortalité (50 p. 100 d'homozygotes et 50 p. 100 d'hétérozygotes résistants). Cette expérimentation permet à ces auteurs de conclure que la résistance au lindane est monofactorielle dans la souche qu'ils ont étudiée (originaire d'Omdurman, Soudan).

Tsukamoto (1964) a trouvé que la résistance au lindane de la souche « Hikone » était attribuable à plusieurs gènes : un gène principal porté sur le 2e chromosome et deux gènes secondaires localisés

et ses coll. ont aussi procédé, à partir de 1957, à l'isolement de tels mutants, dans le laboratoire de génétique de la Faculté d'Osaka. Enfin, Hiroyoshi (1960) a effectué un travail similaire à l'Université du Kansas.

(3) Nous avons vu précédemment que le lindane et le dieldrin appartiennent au même groupe de résistance et que, de ce fait, les conclusions auxquelles aboutissent les recherches génétiques menées sur l'un d'eux sont en grande partie, sinon absolument, valables pour l'autre.

sur le 3e et le 5e. Kasai et Ogita (1965) ont fait la même observation et attribuent au 2e chromosome une importance égale à tous les autres chromosomes intervenant dans la résistance au lindane de cette souche.

La publication la plus récente et la plus approfondie sur cette

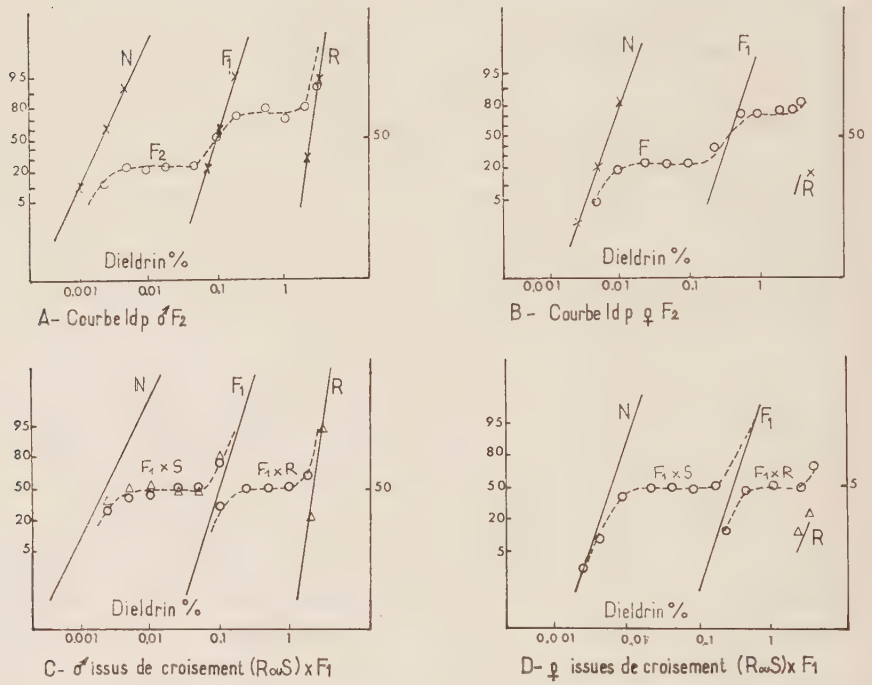


Fig. 17. — Génétique de la résistance au lindane et au dieldrin (d'après Guneidy et Busvine, 1964). Courbe *ld-p* résultant de tests réalisés sur des insectes (F1) issus de croisements entre une souche résistante aux insecticides du groupe du lindane (R) et de mouches normales sensibles (N). *A* et *B*, courbes de régression pour les mâles et les femelles des F1 et F2; *C* et *D* courbes de régression pour les mâles et les femelles descendants de croisements en retour de la F 1 avec des mouches résistantes et sensibles. Dans les schémas *C* et *D*, les triangles représentent les individus issus de croisements avec des ♂ F 1 et les cercles, ceux issus de ♀ F 1.

question est celle d'Oppenoorth et Nasrath (1966). Ces auteurs ont utilisé la souche U2 de Busvine qu'ils ont croisée avec diverses souches mutantes sélectionnées par Milani ou Hiroyoshi, en particulier avec la souche « cut » (ct) présentant une anomalie alaire (extrémité de l'aile absente) dont le gène est porté par le 4e chromo-

some. Le croisement de mâles issus de la F1 (U2 ♀ × ctct ♂), par des femelles ctct récessives, permet de conclure par l'étude de leur descendance, que la résistance au dieldrin résulte d'un gène localisé sur le 4e chromosome et associé à l'allélomorphe du gène « cut ». En effet tous les individus récessifs à ailes « cut », obtenus par ces croisements en retour, sont sensibles, alors que ceux à ailes normales sont résistants au dieldrin. Des tests avec le lindane effectués avec les descendants de ces mêmes croisements, montrent que les droites de régression sont alors plus complexes, pour la F1, et présentent des inflexions aux faibles doses, ce qui ne peut être expliqué que par la présence d'autres facteurs de résistance, portés par d'autres chromosomes que la 4e paire. Oppenoorth et Nasrath concluent que la résistance au lindane est multifactorielle, tous les chromosomes portant des gènes qui interviennent dans ce phénomène, à l'exception de la 5e paire dont l'effet serait plus faible.

On peut résumer ce bref aperçu des travaux actuels sur la génétique de la résistance au lindane en écrivant que la nature et la localisation des gènes de résistance semblent varier beaucoup d'une souche à l'autre. En outre, il persiste certaines contradictions apparentes car il semble peu probable que la résistance soit monofactorielle dans un cas, plurifactorielle dans d'autres, pour un même insecticide et dans la même espèce. Cependant la résistance au lindane s'avère dans la plupart des cas polygénique, avec action prédominante d'un gène. Tsukamoto, Ogaki et Kikkawa (1956), concluaient toutefois dans une de leurs publications sur la génétique de la résistance de *Drosophila* au D.D.T. que la distinction entre résistance monofactorielle et plurifactorielle était assez arbitraire. Il y aurait toujours en réalité combinaison d'un gène principal avec plusieurs gènes mineurs d'action additive. Les recherches sur l'hérédité de la résistance par des tests utilisant de fortes doses, ne permettraient de révéler que le gène majeur, alors que l'usage de plusieurs doses discriminantes mettrait en évidence les autres facteurs.

Le sexe ne semble pas jouer un rôle dans les mécanismes de résistance aux insecticides. Il existe toutefois quelques rares exceptions; ainsi Kerr (1960) a signalé une souche de *Musca domestica* résistante au D.D.T. et répondant à une transmission héréditaire holandrique. Ozburn et Morrison (1965) ont démontré au contraire

que dans le cas général la sélection de souches de mouches domestiques D.D.T. résistantes ne dépendait pas du sexe soumis à la pression sélective. Ils ont pour cela, dans une série d'expériences, appliqué soit sur des asticots, soit sur des adultes mâles ou femelles, des microgouttes de D.D.T. en solution benzénique. Le niveau de résistance atteint en 20 générations ainsi sélectionnées est comparable, quel que soit le sexe ou le stade traité. Ils concluent que les gènes responsables semblent par conséquent totalement indépendants du sexe.

Remarques. — Il demeure malheureusement plusieurs questions fondamentales en suspens, auxquelles les études génétiques semblent jusqu'à présent incapables de donner une réponse définitive. Comment expliquer que la résistance au lindane-dieldrin, très uniforme comme le souligne Busvine, dépende selon les souches étudiées de gènes différents, puisque portés selon les cas par les 2e, 4e ou 5e chromosomes et parfois par plusieurs d'entre eux chez la mouche domestique ? Comment expliquer que cette résistance est déterminée, selon les cas, par un ou plusieurs gènes et que dans une même espèce, le caractère de résistance se comporte, selon la souche, comme dominant, intermédiaire ou récessif ?

La théorie de la préadaptation (sélection sous l'effet de l'insecticide de mutants préexistants dans la population), rend par ailleurs difficilement compte de l'aspect « universel » de la résistance aux insecticides. Dans l'éventualité où la résistance résulterait d'une sélection d'individus préadaptés, ce phénomène devrait être plutôt rare, restreint à quelques souches privilégiées ayant l'apanage de renfermer quelques mutants favorisés, antérieurement au contact toxique. Or l'expérience quotidienne montre que dans l'immense majorité des cas, les traitements insecticides amènent irrévocablement parfois à une vitesse surprenante, l'apparition de souches résistantes quelle que soit l'espèce ou l'origine géographique de la population considérée. De plus, même en tenant compte des hétérozygotes, la rareté des individus mutants préadaptés dans une population normale, sensible, devrait s'accompagner d'une incapacité à la détoxification de la plupart des individus, puisque seuls quelques rares mutants seraient pourvus de l'équipement enzymatique nécessaire. Cette proposition est contredite par les faits expérimentaux. Nous avons déjà cité les travaux biochimiques attestant que tous les

insectes d'une population, qu'ils soient résistants intermédiaires ou sensibles, sont capables de métaboliser les insecticides. Il n'y a qu'une différence « quantitative » et non « qualitative » dans cette aptitude, entre individus sensibles et résistants.

Si la résistance découle uniquement d'individus préadaptés, on devrait logiquement s'attendre à ce que les niveaux de résistance atteints en un nombre de générations déterminé soient d'autant plus élevés que l'effet de sélection est plus intense. Or, il existe de nombreuses exceptions à cette règle. King (1954) a montré qu'une souche de *Drosophila* originaire de la région de New-York a développé une résistance au D.D.T. d'autant plus forte que le niveau de sélection était plus bas. Une souche, isolée par traitement avec des doses de l'ordre de la DL 50, a atteint en 20 générations un niveau de résistance deux fois supérieur à une autre, sélectionnée avec des doses plus fortes que la DL 95.

Enfin, le retour plus ou moins rapide des souches résistantes à un état sensible normal, quand on supprime l'action sélective de l'insecticide, n'est expliqué qu'avec difficulté par la théorie génétique. On admet, d'une façon générale, que la sélection n'a pas permis d'aboutir à des lignées pures (1) et qu'il persiste dans la population des individus hétérozygotes pour les gènes « sensibles » et « résistants ». En supprimant la pression sélective de l'insecticide, ces hétérozygotes supposés plus vigoureux ou plus féconds, répandraient le gène sensible dans la population qui finirait par comporter à nouveau une part importante d'homozygotes sensibles. En réalité, nous avons vu dans la première partie de ce travail, à propos de l'action du lindane sur la physiologie de la reproduction que non seulement l'on n'a pu démontrer une plus grande fécondité des individus sensibles, mais au contraire, que l'action modérée de ce toxique renforce le potentiel de reproduction des insectes.

Certains auteurs ont invoqué l'existence d'une action mutagène des insecticides. La diminution progressive de la sensibilité au toxique résulterait d'une sélection, combinée à l'apparition de

(1) Il existe un nombre infime de souches dont la résistance s'est conservée inaltérée en l'absence de contact avec le toxique pendant plus de 10 générations. Crow (1954, 1957) prétend avoir isolé une souche de *Drosophila* résistante au DDT, qui serait stable; mais les diagrammes fournis par cet auteur, à l'appui de ses affirmations, ne sont point convaincants.

nouvelles mutations favorables — induisant par exemple la détoxification — au fur et à mesure de la sélection. Le retour à l'état sensible, en l'absence de contact insecticide, serait provoqué par l'existence de mutations réverses.

Les faits expérimentaux vont à l'encontre de cette hypothèse : il est démontré que les insecticides de synthèse sont habituellement dépourvus d'effet mutagénique. Pielou (1952) et Luers (1953) ont constaté que le D.D.T. ne modifiait pas le taux de mutation chez la Drosophile, celui-ci demeurait inchangé pour le chromosome X par rapport au taux habituel (0,19 p. 100). Ricciardi, Nascimento et Souza (1952) ont cru découvrir un mutant de mouche domestique dont les ailes demeuraient étendues perpendiculairement au corps, ce caractère était apparu dans la descendance de mouches intoxiquées après un traitement à l'H.C.H. à 3 p. 100. Ce fait est totalement indépendant de la résistance et nous avons personnellement observé une telle mutation sur quelques individus de la souche S I.N.A., sensible au lindane à l'écart de tout contact insecticide.

En résumé, la diversité des résultats des analyses génétiques de la résistance (nombre et nature des gènes) et le fait que l'aptitude à la détoxification du produit insecticide existe aussi bien chez les individus sensibles et chez les individus résistants, ne peuvent être aisément expliqués. Certes, il est toujours possible d'invoquer le jeu complexe d'une pression de sélection et d'une pression de mutation (soit dans le sens sensible-résistant ou vice-versa) pour interpréter l'apparition ou la perte progressive de résistance en présence ou en l'absence de toxique, mais il ne s'agit plus d'une démonstration.

B. — De l'existence de processus d'adaptation directe et progressive des insectes aux insecticides.

La théorie de la post-adaptation admet en principe que les phénomènes de résistance peuvent apparaître et se développer dans une population d'insectes, indépendamment de toute sélection.

Les tenants de la théorie génétique tentèrent alors de montrer que l'on ne pourrait pas provoquer ou amplifier la résistance d'une souche en l'absence de sélection.

Une première série d'expériences tendant à démontrer cela est fondée sur l'argumentation suivante : si la résistance résultait d'une adaptation physiologique, il devrait être toujours possible d'engendrer une souche résistante à partir d'un tout petit nombre d'individus à la limite d'un seul couple; au contraire, si la résistance découle d'une préadaptation propre à certains mutants, on ne pourrait isoler de souches résistantes qu'à partir de populations assez nombreuses, en raison de la rareté vraisemblable de ces individus porteurs de gènes de résistance (1). C'est effectivement la conclusion des expérimentateurs, relativement peu nombreux d'ailleurs, qui ont effectué des travaux en ce sens. Nous rappellerons les tentatives infructueuses de d'Alessandro et Coll (1949). Ces auteurs ont exposé la descendance d'un seul couple de mouches, d'une souche sicilienne dénommée « Partinicensis », au contact de surfaces traitées au D.D.T., et n'ont pu obtenir une souche résistante. Notons cependant que ces auteurs utilisèrent de fortes concentrations causant une mortalité absolue en 24 heures dans cette souche très sensible. Ils concluent cependant que cet échec est attribuable à l'absence de gènes de résistance dans le génome du couple choisi au départ. De façon comparable, King (1954), Merrel et Underhill (1956) et Crow (1957), travaillant sur des lignées pures homozygotes de *Drosophila*, n'ont pu aboutir à l'obtention de souches résistantes au D.D.T.

Une autre série d'expériences prétend montrer que l'emploi de doses non léthales d'insecticides (n'entraînant donc pas de sélection par mortalité différentielle) se révèle incapable, après plusieurs applications de diminuer la sensibilité au toxique.

Parmi les travaux effectués dans ce sens, citons ceux de Hoffmann, Roth et Lindquist (1951), Beard (1952), Ciucă (1956), Doby, Friteau et Rault (1960).

Hoffmann et ses coll. ont exposé des souches de mouches domestiques sensibles au D.D.T. à des contacts répétés avec de faibles doses de cet insecticide (doses inférieures à la DL 50 : 0,2 mg par pied carré soit environ 0,2 µg par cm². Ils ont constaté que deux

(1) Ces individus favorisés peuvent être des mutants hétérozygotes ou plus rarement homozygotes, porteurs des gènes qui commandent par exemple les processus de détoxification. Leur fréquence, dans la population est très basse, inférieure en général à 0,5 p. 100 de l'avis des auteurs qui ont tenté de l'évaluer; (ce taux est cependant considérable par rapport aux cas où il est connu avec certitude).

expositions de 10 mm à 7 heures d'intervalle, répétées pendant 3 jours provoquaient 37 p. 100 de mortalité alors que 6 expositions consécutives, en un seul jour, conduisaient à 87 p. 100 de mortalité au dernier traitement. Les mouches survivant à une double exposition quotidienne étaient par ailleurs plus facilement tuées par un traitement ultérieur avec une forte dose (0,5 µg /cm²) que le témoin non préalablement soumis au toxique. Ces auteurs ont observé le même effet en utilisant de plus fortes concentrations, sur une souche résistante au D.D.T.. Donc des traitements préalables avec des doses élevées mais non entièrement léthales, non seulement ne renforcent pas la résistance, mais semblent au contraire rendre l'insecte plus vulnérable à des doses léthales appliquées ultérieurement.

Beard (1952), a étudié l'action de la nicotine, du pyrèthre, du D.D.T. et des arsenicaux, sur l'Hétéroptère *Oncopeltus fasciatus* Dall. et sur des chenilles de *Galleria melonella*. Une semaine après un premier traitement avec des doses égales à la DL 50, il a soumis des lots d'insectes survivants à des concentrations croissantes de toxique pour établir les droites ld-p. Il a constaté dans ces conditions, que les insectes présentaient une sensibilité et une variabilité équivalente ou même supérieure à celle des individus témoins.

Hadaway (1956) a de même observé que des mouches domestiques de souche normale, soumises pendant plusieurs jours à des doses réellement subléthales de lindane ou de D.D.T., présentaient au 10e jour une DL 50 égale à celle du témoin pour le lindane, et légèrement inférieure pour le D.D.T. Il n'y a donc pas eu accoutumance au toxique.

Doby, Friteau et Rault (1960) ont repris sur *Aedes* un protocole expérimental adopté par Ciuca (1956) pour *Anopheles*. Ces auteurs ont aussi vainement tenté de modifier par « mithridatisation » la résistance des *Aedes* au D.D.T. Ils ont pour cela traité des larves à de fortes concentrations, égales ou supérieures à la DL 50, et constaté que les survivantes, soumises 3 jours plus tard à un test insecticide, se révèlent plus sensibles que les larves d'un lot témoin.

D'autres auteurs se sont attachés à montrer que le contact des adultes ou des larves avec de très faibles doses d'insecticides ne

pouvait suffire à provoquer l'apparition de la résistance dans la descendance. Ainsi, Harrisson (1952) n'a pu obtenir de résistance au D.D.T. par exposition répétée de mouches domestiques à des doses ne provoquant aucune mortalité. Luers (1953) a élevé des *Drosophila* pendant une cinquantaine de générations successives, dans des milieux d'élevage renfermant des traces de D.D.T., sans qu'il n'apparaisse de résistance à cet insecticide. Lavagnino (1954) a de même soumis, sans aucun succès, des asticots de mouches domestiques au contact de traces de lindane, adjoint au milieu d'élevage larvaire, pendant plusieurs générations. Toujours chez la même espèce, qui est avec la Drosophile l'insecte sur lequel le plus grand nombre de travaux ont été réalisés, Brown (1959) cite une expérience non publiée de Bovingdon. Cet expérimentateur aurait élevé pendant 27 générations consécutives des asticots en présence de doses de lindane provoquant 85 p. 100 de mortalité, sans faire apparaître de résistance.

Ciuca (1956) n'aurait pu diminuer la sensibilité de larves d'*Anopheles* élevées pendant 14 générations en contact de doses infinitésimales de D.D.T. Avec le même insecticide, Cole et ses coll. (1956) n'ont pu isoler une souche résistante de *Pediculus capitis*, par contact permanent sur un tissu imprégné de traces de cette substance.

Les résultats de telles expériences, prétendent les auteurs, montreraient non seulement que les doses non léthales ne permettent pas de renforcer la résistance de l'insecte, mais encore le rendrait plus vulnérable à des traitements ultérieurs. Mais cette conclusion repose sur des données peu probantes. En effet, l'étude attentive des données numériques publiées par les auteurs ayant entrepris de telles expériences, montre que, dans la plupart des cas, cet effet, dit « cumulatif » du toxique est fort restreint, sinon inexistant. Il peut résulter en particulier de l'emploi dans le pré-traitement de doses trop fortes qui traumatisent l'insecte ou saturent son pouvoir de détoxification. Hadaway (1956) qui a expérimenté avec de faibles doses de lindane sur la mouche domestique, conclut seulement que l'application répétée de faibles doses (1/4 de la DL 50, 6 applications à 24 h. d'intervalle) ne diminuent pas la DL 50 pour le lindane d'individus soumis à ce traitement.

De toutes façons, si de telles expériences n'ont pu aboutir à l'isolement de souches résistantes, on en doit certes chercher l'explication, mais celle-ci ne peut contredire par ailleurs les résultats positifs obtenus par d'autres expérimentateurs et qui démontrent la réalité d'une post-adaptation sous l'action spécifique de l'insecticide.

De tels résultats, qui pourraient être désignés de façon générale comme relevant d'une accoutumance à l'insecticide, sont cependant passés inaperçus et n'ont pas suffisamment retenu l'attention.

Busvine (1965) remarque que de telles recherches mériteraient d'être reprises et approfondies.

Sans doute, les mécanismes génétiques, expliquant la sélection d'une souche résistante à partir d'une population renfermant des mutants préadaptés, ont paru assez sûrs et indiscutables à de nombreux chercheurs pour ne point les porter à rechercher ou accepter d'autres explications éventuelles.

Bien que l'intervention de facteurs extra-chromosomiques dans la résistance aux insecticides n'ait donné lieu à aucune expérimentation depuis plus de 10 ans, il faut cependant noter que leur rôle fut envisagé sous la forme d'une hérédité cytoplasmique, peu après l'apparition des premières souches résistantes au D.D.T. Rappelons à ce propos que la réalité d'un tel processus est actuellement démontrée pour certains micro-organismes. Ainsi Sager (1965) a mis en évidence une hérédité cytoplasmique de la résistance des *Chlamydomonas* à la streptomycine et montré que les gamètes mâles pouvaient aussi transmettre, dans une certaine mesure, les facteurs cytoplasmiques conférant la résistance à cet antibiotique.

Dès 1951, Sanborn déclarait au symposium de Cincinnati sur la résistance aux insecticides qu'il avait « le sentiment que la résistance aux composés chloro-organiques pouvait ne pas être une mutation génique mais plutôt une formation d'enzymes adaptatifs détoxifiant les insectes intoxiqués au D.D.T. » (1952). En réalité, l'universalité de l'apparition des souches résistantes, chaque fois que l'on utilise une substance toxique contre un organisme vivant, suggère qu'il s'agit plus d'une réponse primaire que d'un mécanisme sélectif; par ailleurs, l'intoxication des femelles fait apparaître dans l'œuf des réactions enzymatiques anormales. Ces deux arguments

plaident en faveur de l'existence possible d'une hérédité cytoplasmique.

Cochran, Grayson et Levitan (1952) ont étudié la génétique de la résistance au D.D.T. de *Blatella germanica*. Ils ont constaté que dans les croisements entre souches résistantes et sensibles, la F1 issue de (♂S × ♀R) montrait une résistance supérieure à la F1 (♂R × ♀S); le niveau de résistance se situait dans les deux cas à une valeur intermédiaire entre celles des souches R et S. Ces auteurs concluent que la différence observée entre les croisements ♀ (R × ♂ S) et (♀ S × ♂ R) attestent d'une hérédité cytoplasmique et que les particularités de la résistance en F2 suggèrent un contrôle par des facteurs chromosomiques récessifs. Il y aurait donc, selon ces auteurs, intervention simultanée de facteurs héréditaires intra et extra chromosomiques dans la résistance de *Blatella germanica* au D.D.T.

Pimentel, Schwardt et Dewey (1954) ont observé que les croisements ♂ Naidm (sensibles) × ♀ Tompkins (résistantes) produisaient des individus plus résistants au knock-down que les mouches issues des croisements inverses. Ils trouvaient des KD 50 suivantes (1) après douze heures de contact par pulvérisation de D.D.T.

Croisement	KD 50 des ♀	KD 50 des ♂
♂ R × ♀ S	3,5 %	5,5 %
♂ S × ♀ R	2,6 %	4,2 %

Johnston, Bogart et Lindquist (1954) ont été beaucoup plus catégoriques dans leurs conclusions, que les auteurs précédents, après avoir entrepris une série de recherches pour tenter de démontrer l'existence d'une hérédité cytoplasmique, dans la transmission de la résistance au D.D.T. des souches de *Musca domestica* « Orlando » et « bellflower ». Des croisements réciproques effectués entre souches résistantes et sensibles ont montré que les F2 étaient de tolérance équivalente, avec cependant une légère supériorité pour les individus issus des F1 (♀ R × ♂ S) lesquelles étaient nettement plus résistantes que les F2 issues de F1 (♀ S × ♂ R). Johnston et ses coll. constatèrent d'autre part que les souches « Orlando » et « Bellflower » perdaient rapidement leur résistance au D.D.T.; la suppression du contact

(1) KD 50 : concentration provoquant 50 p. 100 de knock-down dans l'échantillon en un temps déterminé, ici 12 heures.

insecticide conduisait en 9 générations la souche « Orlando » à une sensibilité comparable à celle des individus sensibles normaux, et la souche « Bellflower » à une diminution significative de résistance en 6 générations (1). Ces auteurs attribuent la perte de résistance au D.D.T. à un effet « Dauer ». Celui-ci se définit comme un changement cytoplasmique induit par un facteur externe, dont la pénétrance et l'expressivité décroissent au cours des générations successives en l'absence de stimulus inducteur. Johnston et ses coll. considèrent que la résistance au D.DT.de la souche « Orlando » est sous la dépendance d'un facteur cytoplasmique. Il existerait à leur avis des particules plasmales agissant comme les facteurs « Kappa » de Sonneborn, contrôlées comme ces derniers par un ou plusieurs gènes chromosomiques. Un autre argument invoqué par ces auteurs en faveur de cette théorie est fondé sur la diminution de résistance observée en l'absence de contact insecticide, et le retour rapide à une forte résistance dès qu'on fait intervenir à nouveau celui-ci. Ils considèrent que l'accroissement considérable de résistance que l'on observe dans de telles souches ne peut s'expliquer par le seul jeu du facteur sélectif que représente le toxique. Ils l'attribuent à l'effet stimulant du D.D.T. sur la reproduction des particules cytoplasmiques responsables de la résistance, ou à l'activation de nouveaux gènes cytoplasmiques par cet insecticide.

On trouve dans la littérature un certain nombre de références qui suggèrent qu'un premier contact insecticide effectué à de faibles doses dites subléthales, loin de sensibiliser l'individu traité à un contact ultérieur, semble au contraire provoquer chez lui une réaction détoxifiante et le rendre moins sensible à une nouvelle intoxication. Nous avons déjà cité les expériences d'Hadaway, lesquelles montrent que des doses subléthales de lindane administrées à intervalles de temps suffisamment espacés ne présentent pas d'effet cumulatif. L'observation la plus convaincante en ce domaine, réalisée antérieurement à nos travaux est celle de Bridges et Cox (1959). Ces auteurs ont étudié une souche de mouches domestiques sélectionnée par Busvine et résistante au dieldrin et au lindane. La résistance

(1) Metcalf et March n'auraient pas observé de perte de résistance dans la souche « Bellflower » élevée pendant plus de 35 générations en l'absence de D.DT. Cette contradiction apparente s'expliquerait par le fait que ces derniers élevaient les asticots à une température inférieure à 20° F à celle utilisée par Johnston et ses collaborateurs.

initiale assez faible, fut rapidement accrue en élevant des larves dans un milieu renfermant 150 ppm de dieldrin. Dans ces conditions, ils observèrent un rapide accroissement de la résistance en 6 générations. Cependant, ils furent surpris de constater que la suppression du dieldrin du milieu d'élevage larvaire pour un lot de larves de la 7e génération produisait une diminution soudaine de résistance chez les adultes (RND) issus de ce lot. La résistance inférieure de ces derniers par rapport à un lot témoin (R) élevé en présence de dieldrin était d'autant plus étonnante que les deux groupes de mouches provenaient des mêmes parents, appartenaient aux mêmes générations et que les mouches R renfermaient avant le test un taux élevé de dieldrin dans leurs tissus et auraient du être par conséquent plus sensibles à un second traitement. Bridges et Cox concluent que la résistance au dieldrin-lindane dans cette souche n'est pas de nature génétique. Pour que leur expérience fut décisive, il aurait fallu que ces auteurs montrent que les doses de dieldrin utilisées ne provoquaient plus aucune mortalité dans les populations larvaires de la souche R, donc n'induisaient aucune sélection susceptible d'expliquer l'effet observé.

L'adoption d'autres protocoles expérimentaux a permis à Derbeneva-ukhova (1962) et Beard (1965) de mettre en évidence certains effets des insecticides qui suggèrent l'existence de processus post-adaptatifs dans le déterminisme de la résistance. Derbeneva-ukhova a étudié l'action du D.D.T. et du diazinon sur la mouche domestique. Le traitement des adultes d'une souche initialement sensible à de très fortes doses, de l'ordre de la DL 95, ne provoque aucun accroissement de résistance pendant les 4 à 5 premières générations. La plupart des femelles présentent alors de nombreuses atrésies folliculaires dans leurs ovaires, puis ces phénomènes de dégénérescence ovarienne régressent tandis que la résistance s'accroit progressivement. Cet auteur conclut, à juste titre, que ces faits expérimentaux ne peuvent être expliqués par une simple sélection d'individus préadaptés car dans ce cas la résistance devrait s'accroître dès la première génération et on ne pourrait trouver aucune explication aux modifications ovariennes observées.

Beard (1965) a fait appel au contraire à de très faibles doses de D.D.T. administrées en mélange avec le lait en poudre donné en

nourriture aux mouches adultes. Il a constaté que les femelles ainsi traitées produisaient une descendance moins sensible au D.D.T. que le témoin. Aucun effet sélectif direct ne peut être invoqué puisque les quantités très faibles d'insecticides absorbées par les mouches n'ont provoqué aucune mortalité.

Si l'on étend l'étude des données expérimentales relatives à la présence de phénomènes d'accoutumance physiologique à des facteurs biotiques ou abiotiques défavorables chez d'autres organismes que les insectes, on constate que les exemples de telles adaptations sont encore plus nombreux que l'on pourrait le supposer.

On ne peut manquer de faire une analogie entre la résistance des insectes aux insecticides et la résistance des bactéries aux antibiotiques et plus généralement à tous les milieux renfermant des substances inusuelles ou toxiques. Dans un cas comme dans l'autre, ces phénomènes résultent en dernière analyse d'une dégradation enzymatique des composés toxiques et s'accompagne, tout au moins chez les bactéries d'une synthèse d'enzymes adaptatifs. L'adaptation enzymatique est un processus connu depuis plusieurs décennies. Elle consiste en l'élaboration par le cytoplasme de nouveaux ferments en accord avec un changement des conditions biochimiques du milieu .Monod (1952) dans un travail classique sur *Escherischia coli* a montré que ces bactéries élevées sur des milieux de culture renfermant du lactose secrètent en quelques heures un enzyme adaptatif, la β — galactosidase, qui hydrolyse ce diholoside en β — galactose.

La suppression du lactose arrête la synthèse de l'enzyme, la bactérie est dite « désadaptée ». Fait capital, Monod a démontré qu'il ne s'agissait pas d'une sélection de quelques mutants pourvus de gène favorable; la lactose agit comme inducteur spécifique **de toutes les cellules**, ce qui exclut une interprétation génétique de ce phénomène. Cependant, la production de cet enzyme, adaptation phénotypique, dépend de facteurs génétiques qui contrôlent sa synthèse : Cohen-Bazire et Jolit (1953) ont montré que des transplantations alternées d'*Escherischia coli* sur des milieux avec ou sans lactose conduisait à l'isolement de souches stables, conservant indéfiniment l'aptitude à synthétiser de la β — galactosidase, même en l'absence de lactose.

Dans un autre domaine, des recherches effectuées par A. An-

TOINE (1964-1965) sur la résistance de la levure *Saccharomyces ellipsoideus* aux ions cuivriques, ont fait conclure à cet auteur que ce phénomène ne consistait point en une sélection de mutants préadaptés mais résultait de processus d'hérédité cytoplasmique. Cet auteur a constaté que les formes résistantes, aux contours cellulaires allongés (formes longues) n'existaient jamais dans les milieux de culture normaux dépourvus de cuivre et qu'en présence de ce toxique, les levures sensibles de forme ronde, donnaient naissance par bourgeonnement à des formes intermédiaires plus oblongues, et parfois même à des formes longues résistantes. Cependant, cet auteur n'interprète pas ces faits comme une post-adaptation pure et simple mais comme le résultat de mutations géniques dirigées induites par le toxique.

Quoique éloignée en apparence des phénomènes de résistance aux insecticides, la résistance de certains Nématodes aux températures élevées soulève des problèmes analogues à bien des égards. Ici encore se pose la question du déterminisme de ce processus. Le facteur défavorable, ne fait-il qu'exercer une « pression sélective » favorisant un certain nombre d'individus préadaptés, ou détermine-t-il une accoutumance physiologique, et dans ce cas, on se trouverait en présence d'une véritable post-adaptation ? Les recherches de BRUN (1966, a, b, c,) sur l'adaptation de *Coenorhabditis elegans* à des températures élevées constituent un impressionnant ensemble de données expérimentales qui plaident en faveur d'une post-adaptation. Cet auteur a montré que ce Nématode hermaphrodite et autofécond, qui se reproduit indéfiniment à 18°C mais devient stérile en peu de générations si on le place subitement à 24°5, peut s'adapter à cette température si on le cultive pendant plusieurs générations à des températures intermédiaires que l'on relève graduellement par paliers de 0,5°... La fécondité de *C. elegans* s'accroit avec la durée de l'élevage à ces températures intermédiaires ainsi que son aptitude à résister à l'influence nocive d'une température supérieure. En outre, le degré d'adaptation d'une lignée à une température déterminée est d'autant plus élevée que le nombre de générations pendant lequel l'élevage a été pratiqué est plus grand. L'adaptation résulte donc d'un effet cumulatif qui accompagne l'action des températures élevées. Cette résistance ne provient point

d'une sélection d'individus préadaptés, en effet ce Nématode est hermaphrodite et autofécond donc la lignée initiale était certainement homozygote, d'autant plus qu'elle était élevée depuis 700 générations en laboratoire avant qu'elle ne soit soumise à ces températures élevées ! Brun en arrive alors à discuter de la question fondamenale suivante : comment cette accoutumance physiologique, qui provient indiscutablement d'une postadaptation de la population, peut-elle être transmise par la descendance ? Il exclut catégoriquement l'hypothèse des mutations chromosomiques et des mutations géniques : « il est très difficile de concevoir une succession de mutations géniques favorables assurant l'accoutumance d'un organisme à des conditions de milieu de plus en plus sévères »... En outre, au moment de la période de sensibilisation (qui précède l'apparition de l'accoutumance (1) plus de la moitié des animaux demeurent fertiles et capables de fournir une souche adaptée à des températures plus élevées. Brun ajoute que l'on ne peut imaginer qu'un taux de mutation aussi élevé survienne dans le petit nombre de générations auxquelles correspond la phase initiale de sensibilisation. Il envisage l'intervention de plasmagènes ou d'autres structures cytoplasmiques plus labiles pour expliquer le mécanisme de la transmission héréditaire de cette adaptation à la descendance.

***

Nous conclurons de cette analyse des diverses données fournies à l'appui de l'une ou de l'autre théorie du déterminisme de la résistance aux insecticides que la réalité d'une accoutumance physiologique à ces composés n'est pas improbable.

Sans nier le rôle des gènes dans les processus enzymatiques de détoxification, qui sont en grande part responsable de la résistance, il demeure vraisemblable qu'interviennent des phénomènes d'adaptation physiologique aux poisons, qui se superposent aux effets purement sélectifs du traitement insecticide. Certes, les processus adaptatifs ne peuvent eux-mêmes que dépendre de facteurs génétiques

(1) Brun retrouve ici le même phénomène de sensibilisation précédant l'apparition de la résistance observé par Derbeneva-Ukhova au sujet de la résistance de la mouche domestique au diazinon.

mais ils se produisent directement sous l'influence de l'insecticide alors que les gènes de résistance apparaissent indépendamment de l'action du toxique.

C'est en cherchant à prouver l'influence directe de l'insecticide sur le taux de résistance de nos souches de mouches domestiques et en éliminant toute sélection génétique, que nous avons cherché à répondre aux problèmes soulevés.

III. — LE DÉVELOPPEMENT DE LA RÉSISTANCE AUX INSECTICIDES DANS LA SOUCHE R (I.N.A.) ET SES CARACTÈRES

A. — HISTORIQUE DE LA SOUCHE R (I.N.A.).

Le laboratoire de Zoologie de l'I.N.A. élève depuis 1952 une souche de mouches domestiques provenant d'une ferme de Seine et Marne, sise au lieu-dit « Clos Fontaine » près de Provins, où l'on avait constaté une diminution brusque de l'efficacité de traitements insecticides à base d'H.C.H. Les premières applications avaient été effectuées en 1949-1950 par la Coopérative agricole de Melun, avec une formulation dénommée « Quinoblanc » fabriquée par la Société « La Quinoléine », que l'on appliquait sous forme d'enduit sur les murs de l'étable et de la bergerie. En 1952, M. Haudiquet, Ingénieur de cette firme, fut alerté par le propriétaire de la ferme qui constatait une grande abondance de mouches survenue au mois de juin, peu après une désinsectisation. Le lavage de tous les murs de la ferme avec une solution huileuse de lindane et la pulvérisation des tas de fumier avec des poudres à 25 p. 100 du même insecticide furent totalement inefficaces, puisqu'il se produisit au mois d'août de la même année, une invasion formidable de mouches domestiques, supérieure aux plus grandes pullulations observées avant le début des traitements insecticides.

Une petite population de mouches fut prélevée alors par les spécialistes de cette firme et envoyée pour étude au Laboratoire de Zoologie de l'I.N.A., où fut entrepris un élevage continu de cette souche résistante désignée depuis R (I.N.A.).

A l'origine, la résistance de la souche fut étudiée par comparaison avec des mouches sensibles provenant de Bondy, dans la banlieue parisienne. Les premiers tests furent effectués avec de l'insecticide commercial à base d'H.C.H., identique à celui utilisé à « Clos-Fontaine », tests par contact à l'égard de mouches mises sous cloches grillagées, badigeonnées d'insecticide de même que le support sur lequel on les plaçait. Dans ces conditions expérimentales, la souche « Bondy » montrait une mortalité de 100 p. cent en 3 heures alors que la souche R (I.N.A.) n'offrait qu'une mortalité de 7 p. cent en 7 heures.

On constatait cependant que la souche « Clos Fontaine » tendait à perdre sa résistance après quelques générations élevées au laboratoire, aussi pour maintenir et renforcer ce caractère en vue d'études ultérieures, fut-il décidé d'élever de façon continue les adultes dans des cages badigeonnées avec une bouillie insecticide à base d'H.C.H., identique à celle utilisée à « Clos Fontaine » (1).

Jusqu'en 1963, et pour se rapprocher des conditions qui déterminèrent l'apparition de la résistance sur le terrain, on utilisa une suspension de 15 g. de matière active (quinoblanc), étendue au pinceau sur les parois de la cage. A partir de décembre 1963, nous avons normalisé ce traitement insecticide et augmenté la dose utilisée : 30 g. de lindane étant dilué dans 60 cm^3 d'eau après adjonction de 0,5 cm^3 d'émulsifiant (Triton X 155), l'émulsion étant répartie sur les parois jusqu'à utilisation totale du liquide obtenu. Par ailleurs, il faut faire remarquer que depuis le début de l'élevage au laboratoire, les cages renfermant les adultes R (I.N.A.) sont soigneusement nettoyées à la brosse métallique et enduites d'une couche fraîche de badigeon insecticide à chaque génération.

Il faut donc distinguer 4 périodes dans l'élevage de la souche R (I.N.A.).

1°. — Son apparition s'est produite dans des conditions naturelles, à partir d'une souche sauvage, à la suite de traitements à l'H.C.H. effectués dans une ferme entre 1949 et 1952.

2° — De 1952 à 1959, les adultes ont subi au laboratoire un

(1) Ultérieurement, la Société fabriquant ce produit a modifié sa formulation si bien que depuis 1959, nous utilisons une préparation à base de lindane pur.

contact à des concentrations semblables à celles utilisées dans les étables.

3°. — De 1959 à décembre 1963, utilisation d'un badigeon permettant d'appliquer 15 gr. de lindane au maximum par cage.

4°. — Depuis 1963, utilisation de 30 gr. de produit commercial émulsionné avec un adjuvant.

Le tableau ci-dessous précise les doses de lindane par m² dans les cages d'élevage des mouches adultes.

TABLEAU VIII

Conditions ayant déterminé l'apparition et l'accroissement de la résistance au lindane dans la souche R (I.N.A.)

Période d'exposition	Nombre de générations traitées	Mode d'emploi de la peinture insecticide	Concentration théorique en mg/m²
De 1949 à 1952 .	15? (à la ferme)	4,15 g de poudre à 3,75 % d'HCH dilués dans l'eau par m² de surface murale des étables (1)	15,5
De 1952 à 1959 .	au laboratoire 68	—	-
De 1959 à déc. 1963	70	15 g de quinoblanc à 0,45 % de lindane dans 30 cm³ d'eau, le volume total n'étant jamais entièrement utilisé	35
De déc. 1963 à juin 1967 . .	47	30 g de quinoblanc à 0,45 % de lindane, dans 60 cm³ d'eau + 0,5 cm³ de Triton X 155	100

(1) (A l'exception d'une génération traitée avec une solution huileuse et par poudrage (concentrations non mentionnées), lors des invasions d'insectes constatées par manque d'efficacité des traitements habituels (cf. plus haut).

En mars 1959, quand nous entreprîmes cette étude, 65 générations successives avaient été élevées au laboratoire et actuellement (juin 1967) nous reproduisons la 186e génération. Aucun symptôme de dégénérescence ou de diminution dans la vitalité de la souche n'est apparu, malgré cet « inbreeding » constant. Par ailleurs, un accroissement lent mais continu de la résistance s'est révélé de façon incontestable pendant cette période. Cette souche R est aussi

à l'origine de la souche S (I.N.A.). En effet, la perte accidentelle en 1953 de la souche sensible « Bondy », nous conduisit à isoler à partir de quelques dizaines d'individus de la souche initiale résistante, une lignée sensible dénommée « Clos Fontaine S » ou S (I.N.A.) génétiquement fort voisine de R puisque issue de la même population initiale.

Il a suffit pour cela de supprimer l'action de l'insecticide sur les adultes, pour que les mouches montrent une perte progressive de leur résistance, retournant à une sensibilité normale, ainsi qu'en témoignent les tests.

B. — ACTION COMPARÉE DU LINDANE SUR LES SOUCHES RÉSISTANTES R (I.N.A.) ET SENSIBLES S (I.N.A.) ET OMS.

1°. — *Résultats des tests « Mortalité temps ».*

Pour obtenir une évaluation du niveau moyen de sensibilité des diverses souches étudiées, nous avons réalisé ces tests sur des échantillons de populations prélevés au hasard dans les cages d'élevage de chaque souche, renfermant un mélange d'individus des deux sexes, d'âge moyen de 3,5 jours, issus de pontes d'âges identiques (1).

Cette détermination du niveau de sensibilité fut réalisée en établissant les droites de régression lt-p (logarithme du temps-probits) d'après les données expérimentales obtenues par la méthode photographique précitée, prolongée pendant 24 heures, les insectes étant intoxiqués par contact sur papier filtre imprégné de lindane.

Cette méthode de test est assez imprécise car l'âge moyen de l'échantillon est aléatoire, de plus il apparaît des variations dans le sex-ratio d'un prélèvement à l'autre; cependant, elle présente l'avantage de donner une estimation plus proche de la réalité sur

(1) Par suite de variations individuelles, la durée du développement post-embryonnaire n'est pas identique pour un groupe d'individus issus de pontes effectuées au même moment. Cependant, la durée pendant laquelle s'étale l'éclosion des pupes provenant de telles pontes est constante pour chaque souche et la moyenne d'âge des adultes est de 3,5 jours inférieure à celle des individus sortis les premiers du puparium. Les premières éclosions d'imago fournissent donc un repère chronologique pour évaluer l'âge moyen d'une population issue d'un même groupe de pontes.

l'efficacité d'un insecticide que d'autres méthodes plus élaborées mais qui s'écartent beaucoup plus des conditions habituelles d'utilisation du produit.

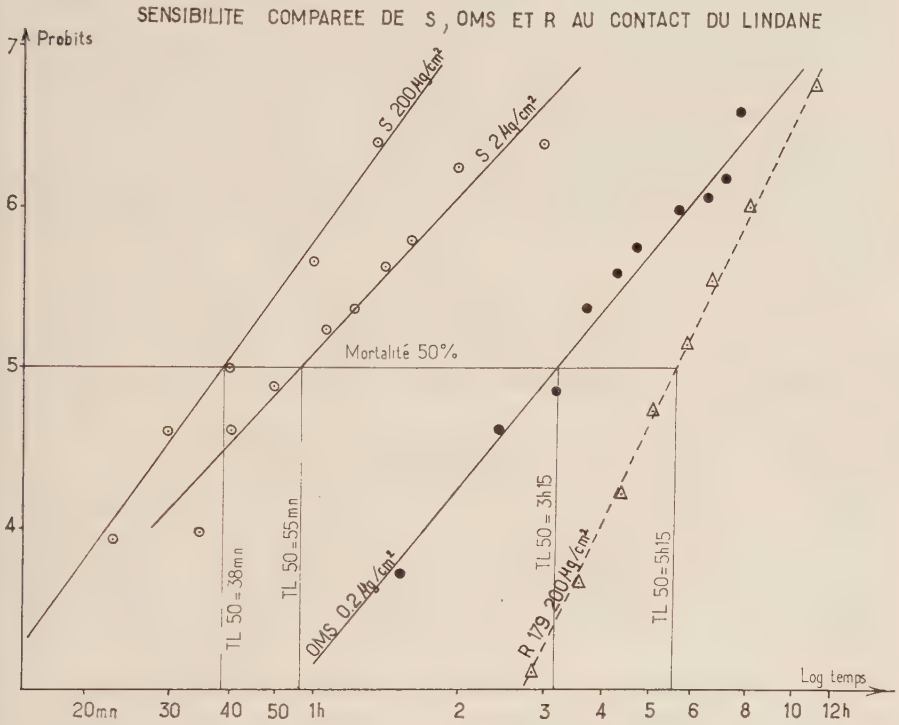


FIG. 18. — Droites *lt-p* (logarithme du temps en abscisse, probits en ordonnées) obtenues avec diverses concentrations de lindane sur les souches R (I.N.A.), S (I.N.A.) et O.M.S. Les échantillons testés renfermaient des individus des deux sexes. On remarque que le TL 50 de la souche R (I.N.A.) est beaucoup plus long avec une dose de lindane de 200 µg /cm², que celui des souches sensibles S (I.N.A.) et O.M.S. mises en présence de concentrations 100 et 1 000 fois plus faibles.

La figure 18 traduit les résultats des tests « mortalité-temps » Les droites lt-p présentent un fort décalage et les différences de pente appréciables selon les souches.

On détermine graphiquement que le TL 50 pour la souche R 179 (1) est de 5 h. 15 et de 3 h. 15 pour la souche OMS avec des

(1) Pour désigner de façon précise le stade de sélection des souches, nous affectons leurs initiales d'un indice correspondant au nombre de générations. Il s'agit par exemple dans ce cas de la 179e génération de la souche R (I.N.A.).

concentrations respectives de 200 µg/cm² et de 0,2 µg/cm². Les mouches sensibles mises en contact d'une concentration de lindane mille fois plus faible périssent cependant nettement plus vite, puisque la différence des TL 50 est de 2 heures! Notons qu'avec une même dose de lindane de 200 µg/cm², le TL 50 est de 38 minutes pour la souche S (I.N.A.) (avec une pente de 4,79 pour la droite lt-p) contre 5 h. 45 pour la souche R I.N.A.(avec une pente de 8,42). La pente plus forte observée pour la droite lt-p avec la souche R (I.N.A.) traduirait une homogénéité supérieure de celle-ci (selon Hoskins). Ce caractère est confirmé avec les tests similaires ld-p (log. dose-probits).

TABLEAU IX

Action du lindane sur des individus appartenant aux souches R (I.N.A.), S (I.N.A.) et O.M.S.

Souche	Concentration en µg/cm²	Pente de la droite de régression	TL 50	TL 95
O.M.S.	0,2	4,32	3 h 15	7 h 40
S (I.N.A.) 65 .	2	4,03	55 mn	2 h 46
	200	4,79	38 mn	1 h 39
R (I.N.A.) 179.	200	8,42	5 h 15	11 h

2°. — *Résultats des tests « mortalité-temps » et « mortalité-concentration » (1) des échantillons ne comportant que des femelles.*

Pour accroître la précision de nos tests, nous avons réalisé la plupart d'entre eux sur des échantillons ne comportant que des femelles, dont l'âge était connu à 12 h. près (au maximum). Les femelles présentant en effet de nombreux avantages sur les mâles, ce qui les fait préférer à ces derniers comme matériel de tests toxicologiques. Leur longévité et leur résistance à des conditions défavorables sont supérieures, elles sont très peu sensibles au CO^2 et endurent beaucoup mieux un séjour de 24 heures en boîte de Petri sans eau ni nourriture. L'usage d'un seul sexe dans les tests conduit à l'obtention d'un meilleur alignement des points expérimentaux

(1) Test par contact sur papier imprégné de l'insecticide.

sur les droites *ld-p* ou *lt-p*, par suite de la plus grande homogénéité de l'échantillon.

La figure 19 correspond aux droites *lt-p* obtenues pour les femelles des souches résistantes et sensibles. On remarque ici encore une différence de sensibilité considérable entre les souches R et S. Le TL 50 est voisin de 70 minutes pour les souches S (I.N.A.) et O.M.S., avec une concentration de lindane de 2 µg/cm²; il est de 5 h. 30, c'est-à-dire cinq fois plus, pour les femelles R (I.N.A.) traitées avec 200 µg/cm². La pente des droites lt-p pour les deux souches sensibles est comparable, ce qui montre qu'elles ont une sensibilité voisine pour le lindane.

On remarque aussi que les points des droites *lt-p* de la souche R (I.N.A.) présentent une inflexion à partir du probit 6,1 pour 200 µg/cm² et du probit 5,5 (1) pour 50 µg/cm².

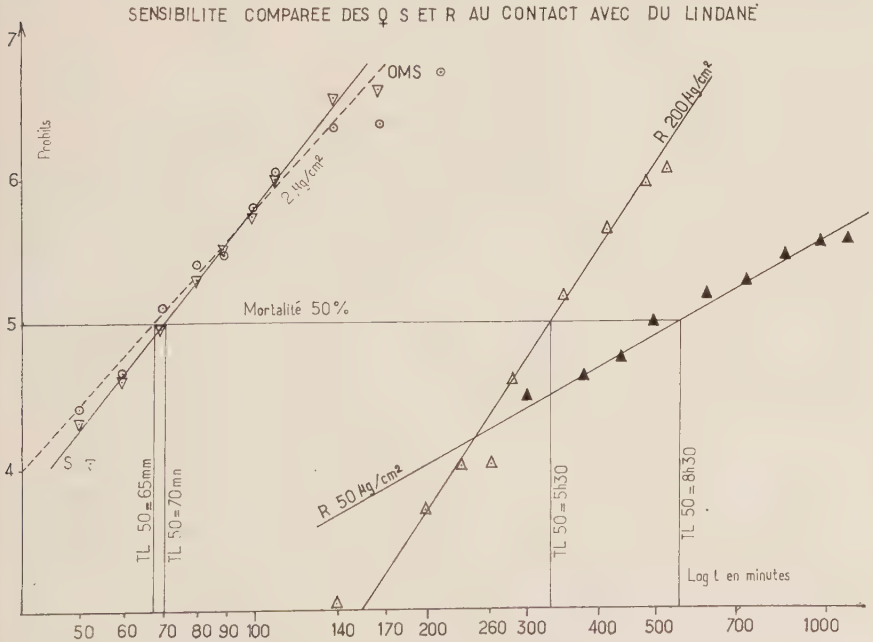


Fig. 19. — Sensibilité comparée des femelles des souches R (I.N.A.), S (I.N.A.) et O.M.S. au contact du lindane (tests mortalité-temps). Le TL 50 pour les mouches S et O.M.S. exposées à une concentration de 0,2 µg/cm² est de l'ordre de une heure contre 5 h 30 pour les femelles R (I.N.A.) exposées à une concentration 100 fois supérieure.

(1) C'est-à-dire respectivement pour 86,5 p. 100 et 69,2 p. 100 de mortalité.

En effet, si les tests « mortalité-temps » ont été effectués avec des doses inférieures à la dose minimum nécessaire pour tuer en 24 heures tous les insectes testés, on observe, après un certain temps d'action, que la courbe non transformée s'infléchit et devient parallèle à l'axe des abscisses ce qui signifie que le pourcentage de mortalité cesse de s'accroître. Dans de tels cas, la transformation de probit ne conduit à une régression linéaire que pendant la première phase du test (mortalité croissant avec le temps), puis apparaît une inflexion et la courbe tend asymptotiquement vers un probit correspondant au pourcentage définitif de mortalité provoqué dans l'échantillon par la dose testée. On remarque toutefois qu'à l'exception des résultats expérimentaux situés dans l'immédiat voisinage du point d'inflexion, les autres points, situés au delà, dans le temps, s'alignent sur une droite, très faiblement inclinés par rapport aux abscisses, après transformation de probit.

TABLEAU X

Constantes caractéristiques déductibles des droites *lt-p* pour les femelles des souches R (I.N.A.), S (I.N.A.) et O.M.S.

Souche	Dose en µg /cm²	TL 50	TL 95
O.M.S.	2	65 mn	2 h 25
S (I.N.A.)	2	70 mn	2 h 21
S (I.N.A.)	50	8 h 30	Pourcentage de mortalité non atteint
	200	5 h 30	

Nous trouvons là un exemple remarquable de la grande différence de sensibilité au lindane des femelles appartenant aux souches S et R. Une dose d'insecticide 100 fois plus forte que celle provoquant un TL 50 de 70 mn pour la souche sensible, nécessite un temps d'action 5 fois plus grand pour provoquer dans la souche R 50 p. 100 de mortalité. Pour obtenir avec la souche R, un TL 50 identique à celui de la souche S, il faudrait une dose 1000 à 5000 fois plus forte.

La comparaison des CL 50 (concentration de Lindane par cm² de surface traitée, nécessaire pour provoquer 50 p. 100 de mortalité en 24 heures) conduit à une conclusion semblable. Nous trouvons

graphiquement, à partir des données numériques réunies dans le Tableau XI, que la CL 50 de la souche S (I.N.A.) est comprise entre 10^{-2} et 5×10^{-2} µg/cm² tandis que pour les femelles de la souche R (I.N.A.) elle se place entre 20 et 50 µg/cm².

TABLEAU XI

MORTALITÉ COMPARÉE DES FEMELLES S ET R (I.N.A.) DANS LES TESTS SUR PAPIER FILTRE IMPRÉGNÉ DE LINDANE

S (I.N.A.)			R (I.N.A.)		
Concentration en µg/cm²	Nombre de ♀ testées	% de mortalité en 24 h	Concentration en µg/cm²	Nombre de ♀ testées	% de mortalité en 24 h
2	100	100	200	200	94
0,5	100	98	50	200	58
5×10^{-2}	200	60	20	200	36
10^{-2}	100	6	10	100	12
5×10^{3}	50	1	5	50	10

Remarquons que les mortalités obtenues dans ces expériences ne sont pas comparables à celles que provoquerait un contact avec les mêmes concentrations à l'air libre. Les échanges gazeux avec l'extérieur, très limités dans les boîtes de Petri, provoquent une intoxication trachéenne qui s'ajoute à l'effet de contact par suite de la sublimation du lindane, assez importante même à 20 °C.

3°. — *Résultat des tests « mortalité-dose »* (1).

Cette méthode permet de déterminer les DL 50 avec précision. Cependant il faut tenir compte du fait que de nombreux facteurs physiologiques conditionnent la sensibilité d'une souche à un insecticide. Ainsi, la DL 50 indique un ordre de grandeur de l'effet toxique plutôt que sa valeur absolue. On constate par exemple que la DL 50, évaluée sur un groupe d'insectes qui n'ont pas le même âge, est

(1) Test par application topique de microgouttes d'une solution de lindane dans l'acétone.

différente de celle d'un échantillon de la même souche mais constitué par des individus d'âge identique, égal à l'âge moyen de l'échantillon précédent.

Pour attribuer à chaque souche une DL 50 qui caractériserait mieux son niveau de sensibilité au lindane, nous avons réuni les données fournies par plusieurs tests effectués sur des échantillons groupant des individus d'âge croissant.

Pour cela, nous avons effectué une série de tests, avec les mêmes doses appliquées par microgouttes sur des insectes d'âge varié, compris entre 36 heures et 10 jours (connu à 12 h. près) et nous avons fait la somme des mortalités observées pour chaque dose. L'âge moyen de l'ensemble des individus testés pour chaque souche est de 5 jours. La forte variation de la DL 50 en fonction de l'âge, la difficulté de tester le même nombre d'individus pour chaque dose aux différents âges et le cumul des données réparties sur 2 ou 3 générations successives ont introduit une certaine hétérogénéité dans les résultats numériques, ce qui explique la valeur élevée du χ^2 résiduel. Les données numériques, obtenues pour la souche R (I.N.A.) à la 172e génération sont réunies dans le tableau XII, celles concernant la souche O.M.S. dans le tableau XIII. Le cas de la souche S (I.N.A.) a été traité en détail dans la partie introductive relative aux techniques de test (cf. p. 110) Toutes ces données ne concernent que des femelles.

TABLEAU XII

Résultats des tests par microgouttes effectués sur la souche R 172

Dose	Nombre de mouches	Mortalité après 24 h	Mortalité (%)	p (morts)	x (survivants)
1 µg	75	0	0	0	1
2 µg	400	63	15,75	0,159	0,842
3 µg	350	168	48	0,480	0,520
4 µg	350	209	59,71	0,597	0,413
6 µg	250	194	77,6	0,776	0,224
8 µg	50	50	100	0,776	0,224
16 µg	50	50	100	1	0

TABLEAU XIII

Résultats des tests par microgouttes réalisés sur la souche O.M.S. Cumul de données obtenues sur des mouches d'âge connu (à ± 12 h) et variant de 36 heures a 10 jours, dans des tests réalisés sur trois générations successives

Dose en µg /♀	Nombre d'individus testés	Mortalité après 24 h	Pourcentage de mortalité	p (morts)	q (survivants)
6×10^{-3} . . .	200	7	3,5	0,035	0,965
10^{-2}	200	42	21	0,21	0,79
4×10^{-2} . . .	340	195	57,4	0,574	0,426
6×10^{-2} . . .	520	339	65,2	0,652	0,348
10^{-1}	270	189	70	0,7	0,3
2×10^{-1} . . .	50	49	98	0,98	0,02

Le calcul des équations des droites *ld-p* et des DL 50, à partir de ces tests, a conduit aux résultats consignés dans le tableau XIV. Nous avons trouvé comme DL 50 respectives : 0,0367 ± 0,0016 µg pour la souche OMS; 0,0303 ± 0,0022 µg pour la souche S (I.N.A.) et 3,47 ± 0,23 µg pour la souche R (I.N.A.) génération 172).

La résistance des femelles R (I.N.A.) est donc plus de 100 fois supérieure à celle de la souche S dont elle est issue; en effet, le cœfficient de résistance, rapport des DL 50 de la souche R (I.N.A.) et S (I.N.A.) s'établit, pour le lindane à $\frac{3,47}{0,0303}$ µg soit 114. Les femelles résistantes sont donc 114 fois plus tolérantes au lindane que les femelles sensibles.

Les droites *ld-p* pour les femelles R et S (I.N.A.) (fig. 20) ne sont pas tout à fait parallèles, la pente obtenue pour les mouches résistantes est plus forte (b = 3,97 pour R et 2,74 pour S (I.N.A.); cela témoignerait, selon Hoskins et Gordon (1956) d'une homogénéité supérieure des mouches R dans leur tolérance au lindane. Inversement, la droite *ld-p* des femelles O.M.S., avec une pente b = 1,73, atteste d'une hétérogénéité plus forte que celle des souches R et S (I.N.A.). Il est aussi très important de remarquer que la souche S (I.N.A.) bien qu'elle ait subi sur le terrain dans le passé, pendant un certain temps, l'action du lindane, est redevenue en élevage de sensibilité tout à fait normale à cet insecticide, puisque sa DL

TABLEAU XIV

DROITES *ld-p* ET CONSTANTES CARACTÉRISTIQUES DES SOUCHES R (I.N.A.), S (I.N.A.) ET O.M.S. OBTENUES A PARTIR DE TESTS PAR MICROGOUTTES EFFECTUÉS AVEC LE LINDANE SUR DES FEMELLES

CARACTÉRISTIQUE \ SOUCHE	R (I.N.A.) 172e GÉNÉRATION	S (I.N.A.) (log. des doses multipliées par 100)	O.M.S. (log. des doses multipliées par 1 000)
Équation de la droite *ld-p*	= 4,907 + 3,969 (x — 0,516)	= 4,996 + 2,744 (x — 0,476)	= 5,098 + 1,726 (x — 1,620)
DL 50 en Unités-Logarithme	0,5394	0,4776	1,5640
DL 50 en µg	3,47	0,0303	0,0367
V DL 50 en Unités-Logarithme	$8,89 \times 10^{-4}$	$8,4 \times 10^{-4}$	$3,9 \times 10^{-4}$
σ DL 50 en Unités-Logarithme	± 0,0284	0,029	0,0198
σ DL 50 en µg	± 0,23	± 0,0022	± 0,0017
Limites de l'intervalle de confiance de la DL 50 pour 95 % de sécurité	3,24 — 3,70	0,0269 — 0,0323	0,0364 — 0,0373
χ^2 résiduel	18 (4 DL)	5,68 (3 DL)	24 (4 DL)

50 est inférieure à celle de la souche de référence O.M.S. (3×10^{-2} µg/♀ contre $3{,}67 \times 10^{-2}$ µg/♀ pour cette dernière).

Il s'est avéré nécessaire de comparer le niveau de résistance atteint par notre souche R (I.N.A.) à celui de lignées sélectionnées par d'autres auteurs en divers laboratoires. Nous n'avons retenu

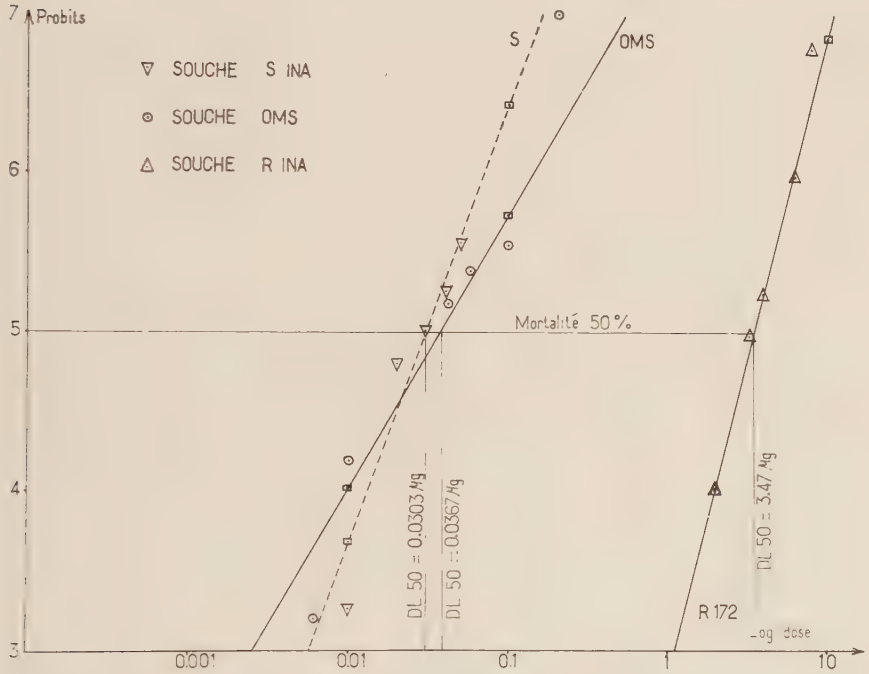


Fig. 20. — Sensibilité comparée des femelles des souches R (I.N.A.), S (I.N.A.) et O.M.S. au contact du lindane (tests mortalité-dose). La DL 50 de R (I.N.A.) est plus de 100 fois supérieure à celle des souches sensibles; de même la pente de la droite *ld-p* est plus forte pour la souche R que pour les souches sensibles.

dans le tableau ci-contre (tableau XV) que les souches dont la DL 50 est égale ou supérieure à celle de notre souche R (I.N.A.). La DL 50 de la souche R (I.N.A.) (3,47 µg [illegible])peut paraître faible si on la compare à celle des souches de Decker et Bruce (1952), de March et Metcalf (1952, 1953) ou de Tsukamoto, dont la DL 50 est de l'ordre de 100 µg [illegible]. Le niveau de résistance de la souche R (I.N.A.) est toutefois comparable à celui des souches Jylland (de Keiding)

TABLEAU XV

COMPARAISON DES PRINCIPALES SOUCHES DE *Musca domestica* RÉSISTANTES AU LINDANE, OBTENUES EN LABORATOIRE

SOUCHE	AUTEURS	DÉBUT DE LA SÉLECTION	MODE DE SÉLECTION	NOMBRE DE GÉNÉRATIONS ÉLEVÉES EN LABORATOIRE	MÉTHODE DE TESTS	DL 50 OU CL 50	COEFFICIENT DE RÉSISTANCE
Hikone (*)	TSUKAMOTO	1958	Discontinue. Contact des adultes et des larves		Microgoutte de lindane	100 µg/♀	> 10 000
Riverside R	METCALF et MARCH	1958	Application topique de lindane sur les adultes	40	—		—
HR 2356	YAMASAKI	1957	?	?	—		—
NAIDM-R	DECKER et BRUCE	1948	Traitement des larves et adultes à fortes doses	50	—		425
« Shot-Gun »	—	—	*Idem*, mais application d'un mélange de chloro-organique à une souche déjà D.D.T.-résistante	50			> 1 000
Jylland (*)	KEIDING	1950	Contact occasionnel des adultes à de fortes doses de lindane	?	—		200
Uruguay H (*)	BUSVINE	1951	Adultes traités par contact puis larves élevées dans milieu avec lindane	?	Injection de lindane dans kérosène	1 µg	220
R I.N.A. (*)	PESSON et RAMADE	1949	Contact permanent des adultes à de très faibles doses de lindane	185	Microgouttes de lindane	3,4 µg	115

(*) L'astérisque indique qu'il s'agit d'une souche dont l'élevage se poursuit actuellement.
(?) Les points d'interrogations signifient que les auteurs n'ont pas publié ces données ou n'ont pas répondu avec précision aux questions que nous leur avons posées au sujet de leur souche.

et Uruguay H (de Busvine), qui sont réputées fortement résistantes au lindane. Or, toutes les souches sélectionnées par ces auteurs furent obtenues en traitant soit les larves, soit les adultes, ou ces deux stades simultanément, à de fortes doses, égales ou supérieures à la DL 90 dans la plupart des cas. De plus, toutes ces souches ont subi, au moins dans des conditions naturelles, et ultérieurement en laboratoire, pour beaucoup d'entre elles, l'action simultanée de plusieurs insecticides, en particulier du D.D.T., ce qui provoque une augmentation considérable du niveau de résistance, bien supérieure à celle que l'on obtiendrait par l'usage d'une seule substance toxique.

Rappelons que l'élevage de la souche R I.N.A., fait à partir d'une souche rurale réputée résistante à des badigeons à base d'H.C.H. (concentration de 15 mg/m² (1) a été d'abord maintenue pendant 60 à 70 générations dans des cages dont les parois présentaient la même concentration de toxique. Il n'a pas été précisé au début de cet élevage si une certaine mortalité se manifestait dans ces cages. Le contact des mouches avec le toxique étant, dans ces conditions, plus fréquent et plus continu que dans les étables, il est possible qu'une légère mortalité ait agi alors comme le facteur sélectif, pour renforcer la résistance de la population. Mais, à partir de la 65e génération, alors que nous avons mieux standardisé les conditions d'élevage de la souche R I.N.A. nous pouvons assurer qu'aucune mortalité n'intervenait dans la population des adultes, avant que ne soit prélevées les pontes pour la reproduction de la génération suivante.

Cependant, en effectuant périodiquement des tests sur les générations successives de la souche R I.N.A., nous avons pu déceler un accroissement lent du niveau de résistance. C'est en vue d'expliquer ce phénomène, non associé à une sélection par mortalité diffé-

(1) Il est impossible de comparer les concentrations de lindane appliquée sur les parois des cages avec celles obtenues à la surface des papiers filtres dans les boites de Petri. En effet, la structure du film insecticide est totalement différente d'un cas à l'autre. La concentration superficielle avec laquelle les mouches sont réellement en contact est supérieure dans le cas des papiers filtres imprégnés, pour une même concentration théorique de toxique. En effet, l'évaporation du solvant concentre les microcristaux de lindane à la surface du papier tandis que le badigeon insecticide, constitué en grande part avec une poudre adjuvante inerte, dilue la matière active, de sorte que la concentration superficielle est moindre que dans le premier cas. De plus, l'effet dû à la sublimation du lindane se surajoute à la toxicité par contact dans les tests en boîte de Petri, alors qu'il est négligeable dans les cages d'élevage. En définitive, nous estimons que la quantité de toxique déposée sur les parois de ces dernières est équivalente tout au plus à une concentration de 0,5 µg/cm² sur papier filtre imprégné, dose qui ne provoque aucune mortalité dans la souche R (I.N.A.).

rencielle, et **conditionné par le contact permanent des seuls adultes avec des doses réellement subléthales d'insecticides,** que nous avons entrepris une série d'expériences sur les modalités et les causes de l'accroissement ou de la diminution de la résistance selon que l'on maintient ou interrompt l'action de contact de l'insecticide, sur les adultes reproducteurs.

Mais avant d'aborder l'exposé de nos recherches, il convient de préciser tous les facteurs (autres que l'action de contact du lindane) susceptibles d'intervenir dans la variation du niveau de résistance des insectes.

C. — Influence de divers facteurs abiotiques et biotiques sur la résistance au lindane.

La sensibilité d'une souche d'insectes aux substances toxiques constitue un phénomène complexe, soumis à l'influence de multiples facteurs physiques et physiologiques. Nous avons déjà évoqué l'importance du mode d'application du poison (type de contact choisi, nature du solvant, diamètre des gouttes, région du corps sur laquelle on les applique etc...). L'état physiologique exerce évidemment une influence encore plus considérable sur le résultat final.

Parmi les conditions physiques, nous avons envisagé le rôle de la température, de l'hygrométrie et des radiations. Nous avons aussi étudié l'influence de la narcose préalable aux tests, celle du poids, du sexe et de l'âge des individus. Il existe bien d'autres facteurs physiologiques qui interviennent dans la sensibilité d'une souche aux insecticides et qui ont fait l'objet de publications : régime alimentaire des larves et des adultes, durée du développement, rythme nycthéméral etc...

a. — Influence de facteurs abiotiques

1°. — *Influence de la température et de l'hygrométrie.*

Dans les processus d'intoxication par un insecticide interviennent de nombreux phénomènes biochimiques qui sont nécessairement sous la dépendance de la température. Chez les insectes, le cœfficient

de température ou Q 10 est de l'ordre de 2 pour la plupart des mécanismes enzymatiques étudiés.

Bien qu'il soit logique de penser *a priori* que la toxicité augmente avec la température, l'expérience montre le contraire dans bien des cas. L'intoxication par un insecticide met en effet en jeu des phénomènes antagonistes. Avec de faibles doses de poison ou avec des insecticides comme le D.D.T. ou le lindane dont l'action est relativement lente, il se produit une compétition entre les processus d'intoxication et les réactions de détoxification. La proportion de morts observés correspond à un équilibre selon la prédominance de l'un ou l'autre type de ces réactions biochimiques.

Guthrie (1950) a montré que chez *Blatella*, le D.D.T. et le lindane sont plus toxiques à basse température alors que la toxicité du dieldrin et de l'aldrin croît quand la température s'élève. Hadaway et Barlow (1957) ont trouvé un cœfficient de température négatif pour *Musca domestica* avec le lindane. La DL 50 étant de 0,083 µg/♀ à 20 °C et 0,075 µg/♀ à 30 °C. Ils concluent cependant qu'entre 15 et 30 °C, les variations de DL 50 observées sont minimes à la limite des intervalles de confiance de leurs tests. Menn, Benjamini et Hoskins (1957) observent aussi un cœfficient de température négatif avec le D.D.T. chez la mouche domestique, après un contact insecticide de 1 h. suivi de 2 h. de récupération à 20 °C.

Température (en °C)	10,5	15	25	35
DL 50 (en µg/♀)	0,03	0,06	0,11	0,25

Le cœfficient de température négatif s'expliquerait par un ralentissement des processus d'intoxication et une accélération des réactions de détoxification dans le cas des insecticides chloro-organiques, ou un ralentissement plus sensible des réactions biochimiques associées à l'empoisonnement que de celles liées à la détoxification.

De nombreux travaux ont été réalisés concernant l'influence de la température et de l'hygrométrie sur la sensibilité des insectes aux pesticides. Ceux de Gosswald (1934) et de Sun (1947) consacrés à l'action des fumigants et des pyréthrines figurent parmi les plus complets. Ils concluent que de façon générale ces substances présentent un cœfficient de température négatif jusqu'à une valeur critique où la mortalité est minimale. Cette valeur correspond à

la température optimum de développement. Au delà de celle-ci, le cœfficient de température devient positif et la mortalité croît.

Les variations de la DL 50 pour le lindane avec la température, observées dans notre souche résistante R (I.N.A.), ne semblent pas s'accorder avec les travaux précédents. Des tests effectués à la 65e génération montraient que la mortalité pour deux doses (1 et 10µ/cm²) était plus forte à 27 °C qu'à 17 °C. Ainsi pour des mouches âgées de 7 jours, nous obtenions les résultats suivants, sur la souche R 65.

Dose	Mortalité % a 17 °C	Mortalité % a 27 °C
1 µg/cm²	2	36
10 µg/cm²	86	97

L'hygrométrie interfère aussi avec le niveau de résistance. Nous avons observé un optimum entre 65-70 p. 100 d'hygrométrie relative, la résistance diminuant en dessous de ces valeurs. Les mouches sont plus résistantes en milieu humide qu'en atmosphère sèche.

2°. — *Influence de l'éclairement sur le niveau de résistance*

Bien que ce facteur influe beaucoup moins que la thermo-hygrométrie, nous avons constaté que, toutes choses étant égales par ailleurs, la proportion de morts obtenus dans l'étuve à test avec un éclairage constant par tubes fluorescents pendant 24 h. est supérieure à celle obtenue à la lumière naturelle. Inversement, la mortalité est minimum si les insectes sont placés dans l'obscurité totale. Sans doute la lumière maintient les mouches dans un état d'activité permanente, ce qui doit accélérer leur intoxication.

3°. — *Influence des radiations ionisantes.*

Des expériences d'irradiation réalisées dans le but de déterminer leur influence sur le niveau de résistance de la descendance des individus irradiés nous ont conduit à étudier dans quelle mesure était perturbée la sensibilité des individus irradiés.

Les seules recherches effectuées jusqu'alors dans ce domaine sont celles de Bigley qui a étudié l'action des radiations ionisantes du Co^{60} à des doses semi-stérilisantes, sur une souche de *Musca domestica* résistante au Malathion. Cet auteur ne donne aucune indication de l'action directe du traitement sur le niveau de résistance des individus irradiés. Il a constaté un accroissement de sensibilité dans la descendance, après 39 générations soumises aux radiations; mais celle-ci est très faible, égale au 1/4 de la DL 50 initiale, et note qu'on observe le même phénomène sur les souches sensibles.

Nous avons effectué deux séries de tests sur la souche R (I.N.A.) A cette fin, des pupes des générations 165 et 166, âgées de 2 jours ont été irradiées par une source de Co^{60} débitant 800 rads/minute. Les pupes irradiées à des doses de 1000 à 5000 rads (sécurité de dose à $\pm$ 5 p. 100) furent ensuite mises à éclore dans les conditions normales d'élevage et nous avons testé les femelles adultes à l'âge de 7 jours, par la méthode des microgouttes. La différence observée entre les DL 50 pour R 165 et R 166 correspond au fait que les femelles de cette dernière étaient de poids plus faible que la normale (17 mg contre 23 mg pour R 165) par suite d'une surpopulation accidentelle du milieu d'élevage larvaire.

Dans ces conditions nous avons trouvé les DL 50 suivantes en fonction de la dose d'irradiation administrée aux pupes.

TABLEAU XVI

Action des radiations ionisantes sur le niveau de résistance au lindane de la souche R (I.N.A.) (DL 50 des femelles en µg)

Doses en rads / Génération	Témoin ♀	1 000	1 500	2 000	3 000	5 000
165	3,3	3	2,1	1,5	0,6	
166	2,4	2		1	0,65	0,3

On peut conclure que l'irradiation au stade nymphal affecte fortement la résistance au lindane de survivants. La DL 50 des femelles issues de pupes exposées à 3000 rads est 4 à 5 fois plus faible que celle du témoin.

La figure 21 met en évidence une corrélation linéaire négative entre la DL 50 et la dose de rayonnement administrée. La différence

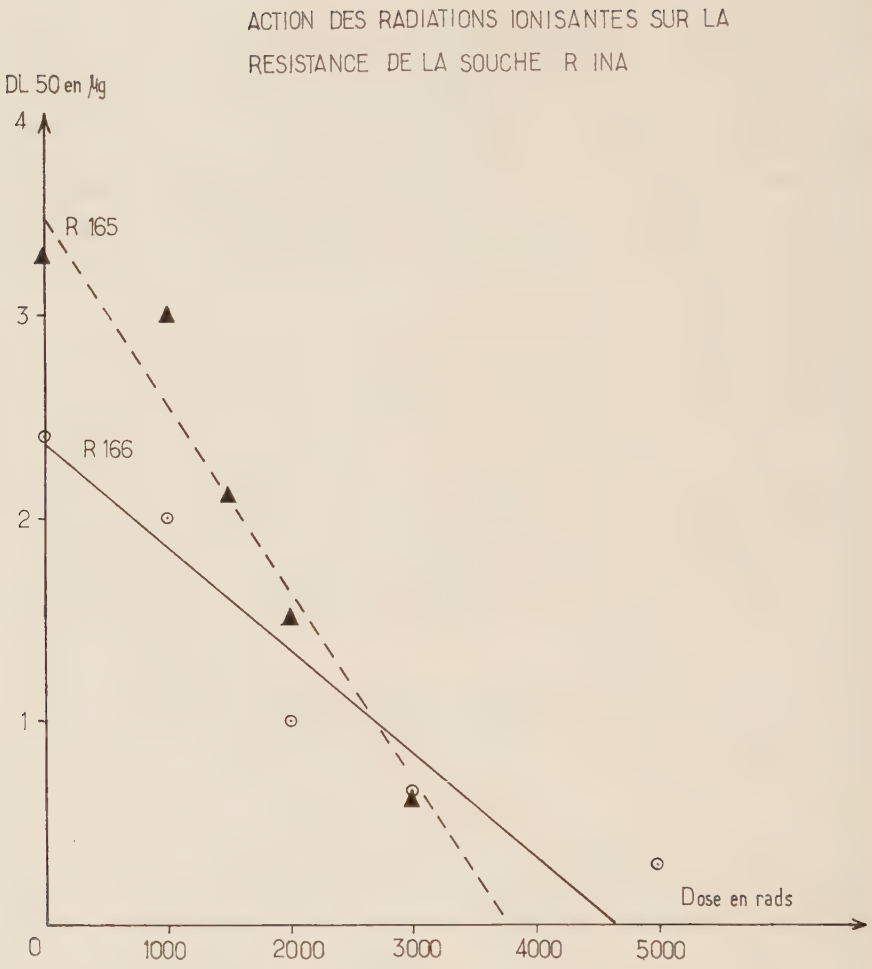


Fig. 21. — Action des radiations ionisantes sur la résistance de la souche R (I.N.A.) La DL 50 des femelles est exprimée en fonction de la dose d'irradiation à laquelle ont été soumises les pupes. On remarque que celle-ci décroît proportionnellement à la dose d'irradiation.

de pente des droites de régression s'explique par le poids anormalement faible des femelles de la génération 166.

Il est vraisemblable que cette forte atténuation de la résistance est liée à une altération des systèmes enzymatiques intervenant dans la dégradation du lindane. Bigley a constaté chez les mouches

qu'il a irradiées, que l'activité aliestérasique et cholinestérasique diminuait beaucoup par rapport aux individus normaux.

4°. — *Influence des narcotiques.*

Nous avons déjà souligné l'action du temps de narcose du CO^2 sur la survie du témoin après 24 heures, dans les conditions normales de test. D'autre substances utilisées pour anesthésier les mouches modifient beaucoup le niveau de résistance. Dans une note préliminaire (P. Pesson et F. Ramade) (1960) nous avons donné une comparaison de l'effet du CO^2 avec ceux du chloroforme et de l'acétate d'éthyle. La figure 22 correspond aux droites lt-p obtenues avec ces trois narcotiques pour une concentration de 100 µg/cm² de lindane. Ces diagrammes montrent que le TL 50 est de 3 h. 25 pour

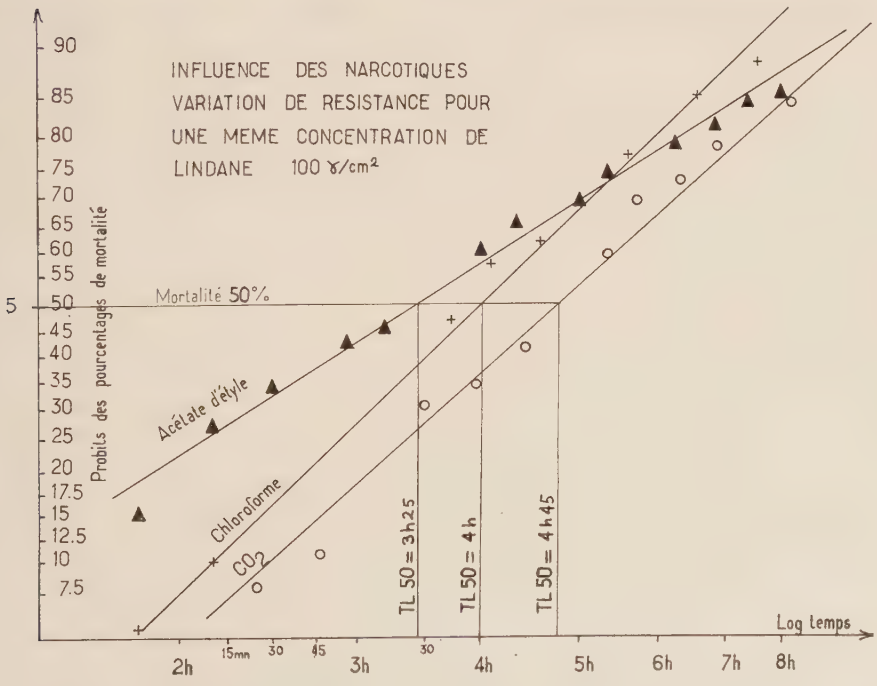


Fig. 22. — Influence de l'anesthésie avec divers narcotiques sur le niveau de résistance au lindane de la souche R (I.N.A.). Tests effectués à la 65e génération avec une concentration de 100 µg/cm².

l'acétate d'éthyle, 4 h. avec le chloroforme et 4 h. 45 pour le CO^2. Le test avait été réalisé avec des adultes des deux sexes de la souche R (I.N.A.) (65e génération) ayant subi une exposition de 2 minutes aux vapeurs de chloroforme ou d'acétate d'éthyle et de 15 minutes au gaz carbonique.

TABLEAU XVII

Influence de l'anesthésie avec différents narcotiques sur le niveau de résistance au lindane de la souche R (I.N.A.) a la 65e génération

Narcotique	TL 50	Mortalité après 24 h
Chloroforme	4 h	96 %
Acétate d'éthyle	3 h 25	95 %
CO_2	4 h 45	92 %

Bien que les mortalités après 24 h. soient comparables, il existe cependant une différence significative entre les droites lt-p correspondant à ces divers narcotiques. On peut conclure que le CO^2 affecte nettement moins que les deux autres composés la tolérance aux insecticides de la souche.

B. — Influence de facteurs biotiques.

1°. — *Influence du poids des mouches.*

Ce facteur joue un rôle primordial dans le degré de résistance individuel aux insecticides. Des tests effectués sur des échantillons d'individus de poids croissant, ont conduit aux valeurs suivantes des DL 50 (tableau XVIII). Les droites ld-p ont été établies sur des femelles de la 181e génération de la souche R (fig. 23).

Le tableau XVIII donne les variations de la DL 50 en fonction du poids individuel. Tests au lindane effectué sur la génération 181 de la souche R (I.N.A.) (femelles élevées sans contact du lindane à partir de leur éclosion, âge moyen des individus testés : 4 jours).

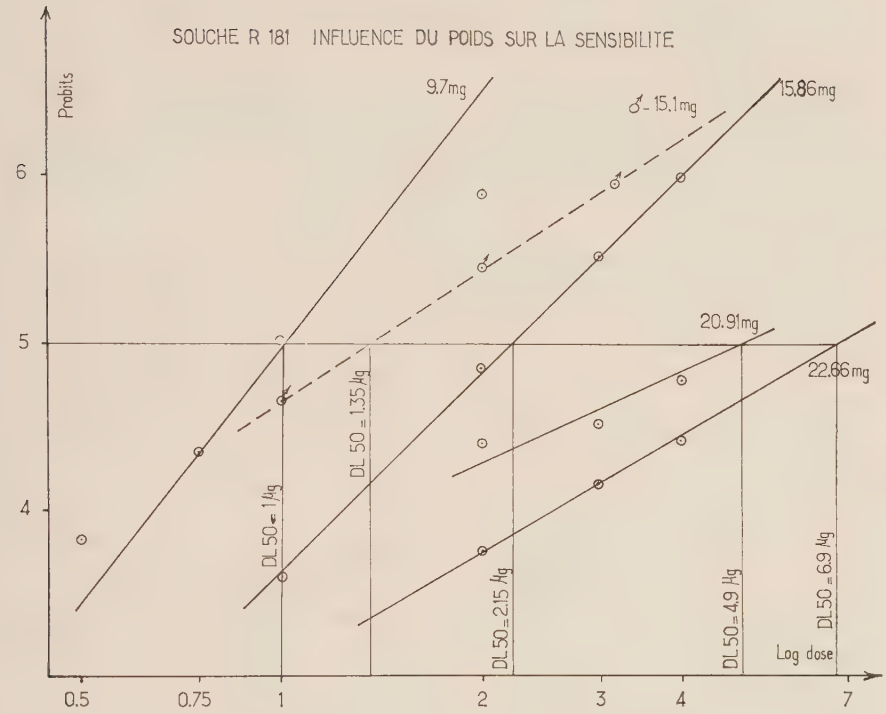


FIG. 23. — Influence du poids sur le niveau de résistance au lindane de la souche R (I.N.A.). Les droites *ld-p* ont été calculées d'après les données des tests réalisés avec des mâles (traits interrompus) et des femelles (traits continus) de la 181e génération, âgés de 4 jours.

TABLEAU XVIII

-POIDS MOYEN DES ♀ (mg)	DL 50 EN µG /♀	DL 50 EN µG /MG DE POIDS CORPOREL
9,7	1	0,103
15,86	2,15	0,134
20,9	4,9	0,234
22,66	6,9	0,305

On remarque que la DL 50 individuelle croît avec le poids de l'insecte, mais cette relation n'est pas directement proportionnelle et paraît être une courbe exponentielle; de nouveaux tests s'imposeraient pour préciser ce point.

2°. — *Influence du sexe.*

La résistance des insectes aux insecticides diffère souvent d'un sexe à l'autre. Parmi les nombreuses publications qui ont mis en évidence cette différence, citons les travaux de Grayson (1953)

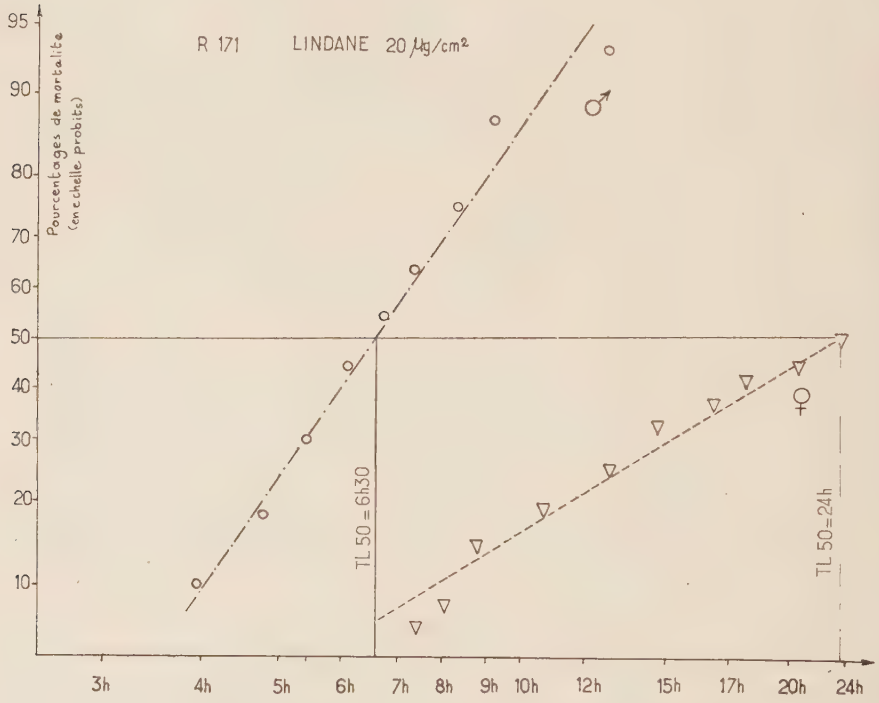


Fig. 24. — Résistance comparée des mâles et des femelles de la souche R (I.N.A.). Tests mortalité-temps avec une concentration de lindane de 20 µg /cm² (181e génération).

qui a signalé chez des *Blatella germanica* résistantes au D.D.T. que les femelles présentaient une DL 50 dix fois supérieure à celle des mâles.

Chez *Musca domestica*, la résistance au lindane est nettement plus forte chez les femelles que chez les mâles. Les figures 23 et 24 nous montrent de fortes différences dans les droites lt-p et ld-p selon les sexes. Ainsi, à la 172e génération, à une concentration en lindane de 20 µg /cm² correspondait un TL 50 de 6 h. 30 pour les mâles et de 24 h. environ

pour les femelles. De même, la DL 50 pour ce même insecticide était de 7 µg/♀ et de 4 µg/♂ à la 170e génération, pour des mouches âgées de 36 heures.

Ces résultats concordent bien avec ceux publiés par Busvine et Kahn (1955). Ces auteurs constatent à propos de la mouche domestique que des tests par microgouttes de lindane appliquées en solution huileuse conduisent au calcul d'une DL 50 deux fois plus forte pour les femelles que pour les mâles.

Il existe certes une différence de poids appréciable, les mâles étant nettement plus légers que les femelles chez *Musca domestica*. Si l'on rapporte la DL 50 au mg de poids vif, on trouve cependant des écarts encore importants. Ainsi à la 181e génération, nous avons obtenu les résultats suivants, avec le lindane, pour des mâles et des femelles de poids comparable.

	Poids moyen	DL 50 (en µg)	DL 50 (en µg/mg)
Mâles	15,1	1,35	0,088
Femelles	15,86	2,01	0,127

Matsubara (1960) a essayé de donner une explication biochimique de ce phénomène. Il a étudié l'importance relative, selon les sexes, de la fraction lipidique totale chez la mouche domestique et la solubilité du D.D.T. et du lindane dans les lipides de chaque sexe. Il a ainsi remarqué que le D.D.T. et le lindane présentent une solubilité équivalente dans les lipides de chaque sexe, sauf au-dessus de 35 °C où les graisses des mâles dissolvent plus rapidement le lindane. Par ailleurs, il a constaté que l'endrin, de toxicité comparable à celle du lindane pour la mouche domestique, est nettement moins soluble. Il conclut que la différence sexuelle de sensibilité aux insecticides ne semble donc pas liée à une richesse plus ou moins grande en lipides ou à une différence de solubilité des toxiques dans ces derniers. Il s'agit d'un phénomène biochimique plus complexe auquel aucune explication satisfaisante n'a été donnée jusqu'à présent.

3°. — *Influence de l'âge.*

La résistance au lindane varie beaucoup au cours de la vie de l'insecte. Dans des expériences préliminaires (1960) nous constations de fortes variations de mortalité à la 68e génération : celles-ci va-

riaient de 6 à 23 p. 100 selon l'âge des individus pour une concentration de 1 µg/cm² dans un échantillon comportant les deux sexes.

Une série de tests effectués sur 4 générations successives dont les femelles étaient d'un âge identique (connu à 8 heures près),

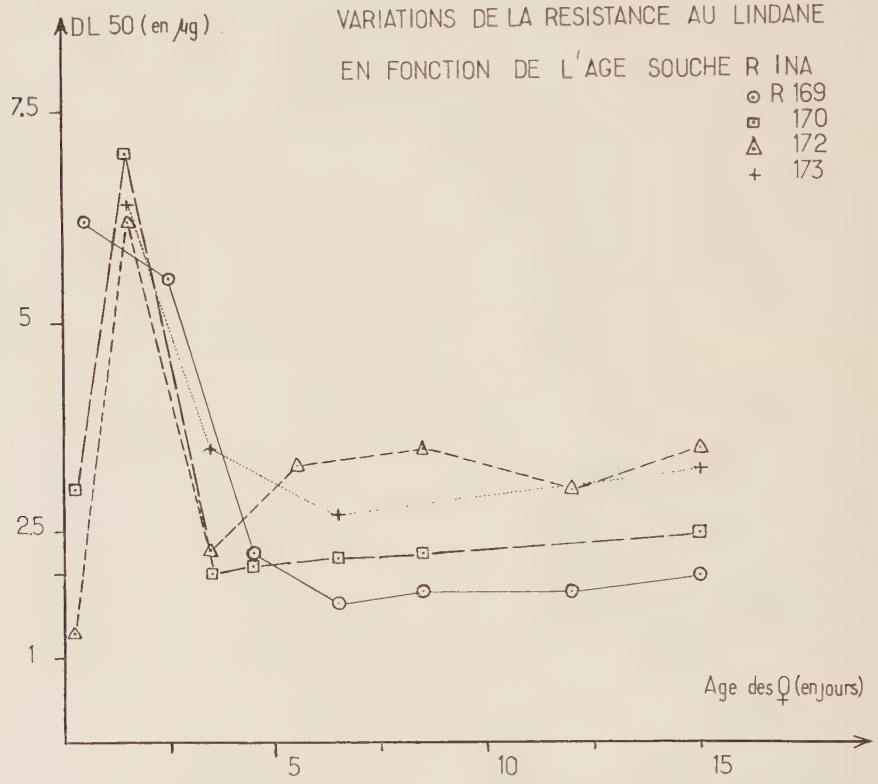


Fig. 25. — Variation de la résistance au lindane chez des femelles de la souche R (I.N.A.) en fonction de l'âge. On remarque un maximum pour les DL 50 de mouches âgées de 36 heures à 2 jours, puis une forte diminution de la DL 50 entre le 4e et le 6e jour, suivie enfin d'une légère augmentation chez les individus plus âgés.

conduit à des courbes très comparables d'une génération à l'autre et montrant une variation dans le même sens de la DL 50 pour le lindane, en fonction de l'âge. (Tableau XIX et fig. 25). Les mouches testées étaient élevées dès l'éclosion à l'intérieur des cages, badigeonnées de lindane. On constate une très forte variation de la DL 50 selon l'âge des insectes. On peut distinguer 3 phases dans ces

fluctuations. Les femelles nouveau-nées sont les moins résistantes, mais très vite leur tolérance s'accroît jusqu'à l'âge de 36-48 h. où elle atteint un maximum. Puis apparaît une augmentation de sensibilité, laquelle semble maximale entre le 4e le 6e jour, pour diminuer ensuite progressivement, au fur et à mesure que les femelles vieillissent. Cependant, les niveaux de résistance atteints sont toujours plus faibles que le pic observé vers la 36e heure, et on peut considérer qu'entre le 7e et le 15e jour, la résistance demeure à peu près constante.

L'étude des droites ld-p obtenues sur une même génération avec des insectes d'âge croissant met en évidence un autre phénomène fort intéressant, lié semble-t-il à une homogénéisation du niveau de résistance. Le χ^2 obtenu pour chaque droite de régression

TABLEAU XIX

Variation de la résistance au lindane en fonction de l'age chez des femelles appartenant a 4 générations successives de la souche R (I.N.A.) Les DL 50 sont exprimées en µg/♀

Génération \ Age	6 h	12 h	36 h	2,5 j	3,5 j	4,5 j	5,5 j	6,5 j	8,5 j	12 j	15 j
169		6,2		5,5		2,25		1,65	1,8	1,8	2
170	3		7		2	2,1		2,2	2,25		2,5
172	1,6		6,03		2,3		3,23		3,28	2,3	2,9
173			6,8		3,5			2,7			3,25

TABLEAU XX

Résultats des tests par microgouttes sur des femelles d'age croissant de la souche R (I.N.A.) a la 172e génération

Age des ♀	Équation de la droite *ld-p*	DL 50 en µg/♀	Écart-type en µg	χ^2 résiduel pour 3 degrés de liberté
6 h	= 5.50 + 5,11 (x — 0,298)	1,58	± 0,09	14,6
1,5 j	= 4,32 + 3,66 (x — 0,598)	6,03	± 0,30	1,65
3,5 j	= 5,52 + 4,67 (x — 0,473)	2,30	± 0,08	1,58
5,5 j	= 4,65 + 5,85 (x — 0,449)	3,23	± 0,10	0,11
8,5 j	= 5,00 + 6,43 (x — 0,516)	3,28	± 0,10	1,48
14 j	= 4,86 + 4,93 (x — 0,421)	2,9	± 0,10	0,06

est dans une certaine mesure lié à l'hétérogénéité de l'échantillon testé. Le calcul de ce paramètre pour les divers âges testés, des générations 169 à 173 de la souche R (I.N.A.) nous a montré que pour un même nombre de doses testées (5 doses soit 3 degrés de liberté pour le résidu) on constate une diminution du χ^2 résiduel avec l'âge. Le tableau XIX fait état des résultats obtenus sur la 172e génération. On constate une tendance à l'homogénéisation chez les femelles testées dont rend compte la diminution du χ^2 résiduel avec l'accroissement de l'âge.

Cette observation est d'autant plus intéressante que cet accroissement dans l'homogénéité de la souche n'est pas lié à une sélection, puisque les femelles sont élevées au contact de traces de lindane qui ne provoquent aucune mortalité ni aucun effet toxique dans la souche résistante. Cela peut traduire que le vieillissement amène les insectes à un certain état physiologique plus constant, que rattrapent peu à peu tous les individus d'une même génération.

D. — Phénomènes de résistance simultanée a divers insecticides. détermination du spectre de résistance de la souche r (i.n.a.).

L'étude de l'action d'autres insecticides que celui ayant provoqué l'apparition de la résistance dans une souche, revêt une grande importance, dans la mesure où elle permet de mettre en évidence des groupes de substances toxiques dont le mode d'action est voisin, sinon identique, et pour lesquelles les insectes présentent des processus de détoxification communs.

Les premiers auteurs qui ont abordé ce problème constatèrent rapidement que la résistance au D.D.T., par exemple, s'accompagnait de celle au methoxychlore et autres substances analogues. De même, la résistance au lindane va de pair avec celle aux cyclopentadiènes chlorés, et inversement, les souches sélectionnées au contact de l'heptachlore ou du dieldrin sont aussi résistantes au lindane. Dès 1949, march et Metcalf observaient qu'une souche de mouches domestiques, soumise accidentellement au contact des vapeurs de chlordane depuis deux ans, était devenue résistante au lindane,

à l'aldrin, au dieldrin et au toxaphène. March (1952) constata cependant, par comparaison de la souche Bellflower — hautement résistante au D.D.T. — et de la souche Pollard, sélectionnée pour la résistance au D.D.T. puis au lindane, que seule la seconde présentait aussi une résistance aux insecticides cyclodiènes chlorés.

Bruce et Decker (1950) considèrent que l'on doit distinguer deux types de résistance aux insecticides chloroorganiques. Le premier type correspond aux souches naturelles ou de laboratoire qui sont résistantes au D.D.T., méthoxychlore et composés apparentés, mais présentent une sensibilité normale au lindane et aux cyclodiènes. Le second type se rapporte à toutes les souches qui sont résistantes au lindane, à l'aldrin, à l'heptachlore et autres cyclodiènes, mais ont une sensibilité normale au D.D.T. et ses homologues.

Il faut adjoindre à ces deux types définis par Decker et Bruce un 3e, qui réunit toutes les souches dans lesquelles on observe une résistance à tous les insecticides chloro-organiques, résistance apparue à la suite de contacts successifs avec des composés appartenant à l'un ou l'autre type. Cette polyrésistance est dénommée *résistance croisée.*

C'est à Busvine (1954) que revient le mérite d'avoir systématisé cet aspect de la résistance aux insecticides, aux conséquences redoutables pour les applications et la réalisation des traitements insecticides; cette résistance croisée peut en effet se manifester dans certaines populations d'insectes alors même que l'on n'a utilisé qu'un seul insecticide. Busvine a imaginé, pour l'étude de ces phénomènes, des diagrammes qu'il appelle « spectres de résistance ». Ces derniers consistent en histogrammes portant les DL 50, calculées en échelle logarithmique, pour toute une série d'insecticides classés dans un ordre conventionnel : chlordane, isodrin, endrin, lindane; aldrin, dieldrin, D.D.T. etc... Cet auteur insiste dans plusieurs de ses publications (1954, 1958, 1961 et 1962) sur la grande similitude d'aspect des spectres de résistance obtenus, sur diverses espèces d'insectes (*Musca*, *Anopheles*, *Aedes*, *Pediculus*, *Lucilia* etc...) et sur des mouches domestiques de différentes provenances géographiques (Uruguay, Sardaigne, Soudan, Angleterre) donc de génotype très différent.

Busvine conclut de son étude que ces phénomènes doivent être mis en rapport avec un mode d'action commun à ces substances et à l'existence probable d'un mécanisme de détoxification identique. Il a d'ailleurs proposé, dans une de ses publications (1954), des modèles moléculaires qui suggèrent une similitude de configuration stéréochimique du lindane et des cyclopentadiènes chlorés, expliquant ainsi la similitude de leur mode d'action. Il existerait d'après cet auteur un toxophore commun, résultant d'un arrangement pentagonal symétrique de cinq atomes de chlore, le 6e présentant au contraire une position excentrique par rapport au reste de la molécule

TABLEAU XXI

Niveau de résistance de diverses espèces d'insectes pour plusieurs insecticides du groupe du lindane (selon Busvine, 1963). Les chiffres indiqués correspondent au coefficient de résistance, rapport entre les DL 50 de la souche résistante et de la souche sensible

Espèces	Lindane	Endrin	Isodrin	Dieldrin	Aldrin	Chlordane
Musca domestica. . . (Uruguay)	100	33	33	600	1 000	5 000
Musca domestica. . . (Soudan)	62	22	23	300	290	220
Anopheles gambiae. . (Ambrosa)	30	90	140	800	400	500
Aedes aegypti . . . . (Porto Rico)	10	11	74	420	230	150
Pediculus capitis. . . (Tanganyka)	3	40	70	280	450	—
Cimex lectularius. . . (Israël)	11	50	80	400	400	800
Lucilia cuprina . . . (Australie)	8	36	54	670	1 400	400
Blatella germanica . .	5	—	—	—	140	110

Les travaux antérieurs sur les phénomènes de polyrésistance aux insecticides permettent de conclure de façon générale qu'il existe 4 grands groupes (en n'envisageant que les souches résistantes obtenues par usage d'un seul insecticide ou d'insecticides chimiquement apparentés et en rejetant les cas de résistance croisée, apparus à la suite d'usage d'insecticides appartenant à des groupes chimiques différents) :

Groupe I — Résistance au D.D.T., Méthoxychlore et substances apparentées.

II — Résistance au lindane, Heptachlore, Chlordane et autres Cyclopentadiènes.

III — Résistance aux composés qui présentent des propriétés anticholinestérasiques : Phosphates organiques et Carbamates.

IV — Résistance aux insecticides d'origine végétale : Pyréthrines essentiellement.

L'étude des publications portant sur ces divers groupes de résistance montre que les souches du groupe I ne sont jamais résistantes aux substances du groupe II et inversement (1).

Les souches résistantes du groupe III (organophosphates en particulier) peuvent acquérir une forte résistance aux hydrocarbures chlorés. Une souche résistante au Parathion (March, Lewallen et Metcalf, 1956) devint 3000 fois moins sensible au D.D.T. que la normale. Meltzer (1956) constata de même que l'apparition d'une résistance au Diazinon dans une souche sauvage augmentait de 12 fois celle au D.D.T., de 20 fois celle au lindane et de 3000 fois celle au Toxaphène.

A l'opposé, les souches des groupes I et II ne deviennent jamais tolérantes aux esters phosphoriques et autres toxiques du groupe III. La seule exception connue est celle d'une souche russe de mouche domestique résistante au D.D.T. dont la tolérance spontanée au chlorophos était assez élevée (Derbeneva-ukhova et Lineva, 1959).

D'autre part, les souches résistantes aux pyréthrines (Groupe IV) présentent une tolérance élevée au chloroorganiques alors que l'inverse n'a jamais été observé (la souche « Pollard » de March n'a accru sa DL 50 pour les pyréthrines que de 60 p. 100 : 1,6 µg/♀ contre 1 µg/♀ pour la souche sensible normale).

Nos premiers tests (1959) sur la souche R (I.N.A.) révèlèrent une forte résistance pour les cychlopentadiènes et une tolérance

(1) Les souches Riverside de March (1952), Tomkins, de Pimentel et Coll. (1953) sont les seules souches résistantes au lindane ayant une résistance élevée au D.D.T. (multipliée respectivement par 30 et 270). Notons cependant qu'à la différence de notre souche R (I.N.A.) toutes les souches résistantes obtenues aux États-Unis en laboratoire proviennent de lieux où des traitements intensifs au D.D.T. avaient précédé ceux au lindane, d'où apparition de résistance croisée.

considérable pour le D.D.T.. Nous constations dès la 65e génération qu'une dose de D.D.T. de 2 µg/cm², qui correspond à la CL 95 de la souche sensible S (I.N.A.) ne provoquaient que 5 p. 100 de mortalité après 24 h. dans la souche R. Pour 20 µg/cm² le TL 50 était de 67 minutes avec S et plus de 5 heures avec R (I.N.A.) (fig. 26). Nous

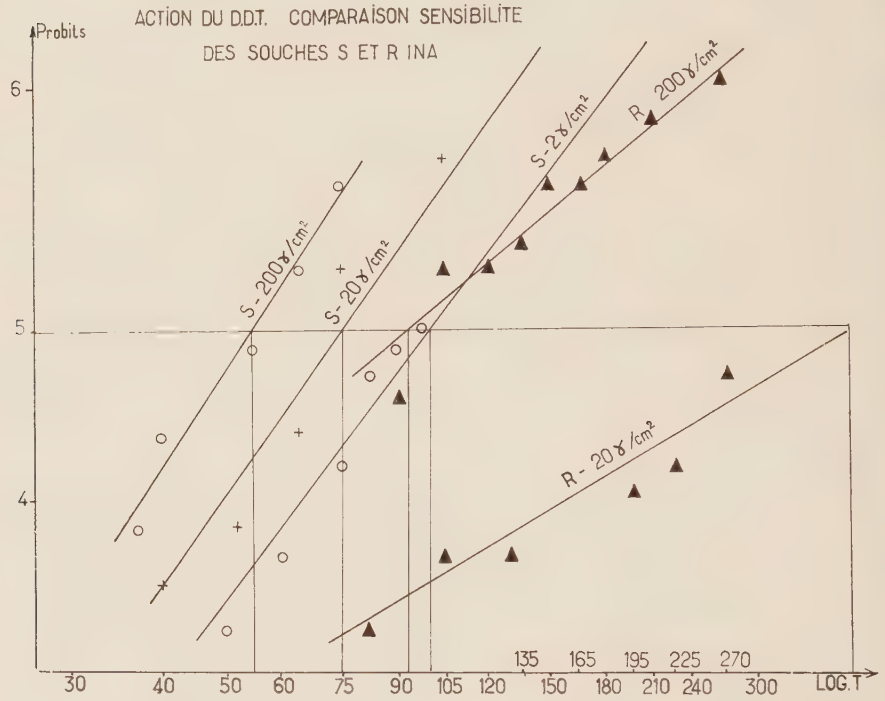


Fig. 26. — Sensibilité comparée au DDT des souches R et S (I.N.A.) de la 65e génération, dans des tests mortalité-temps, pour diverses concentrations.

observions aussi à cette génération un accroissement considérable de la résistance pour le dieldrin et l'endrin, la souche R ne présentant aucune mortalité pour une concentration de 1000 µg = 1 mg/cm² alors que la CL 50 de la souche S (I.N.A.) est inférieure à 10^{-1} µg/cm² pour ces insecticides.

La détermination de la CL 50 pour des insecticides n'appartenant pas au groupe de résistance au lindane nous montra que la souche R (I.N.A.) avait acquis, dès la 95e génération une tolérance importante pour certains d'entre eux (tableau XXII).

TABLEAU XXII

POLYRÉSISTANCE DE LA SOUCHE R (I.N.A.) A LA 95e GÉNÉRATION : CL 50 DES MOUCHES EN µg /cm²

INSECTICIDE	CL 50 EN µG /CM²		COEFFICIENT DE RÉSISTANCE
	R (I.N.A.)	S (I.N.A.)	
Méthoxychlore	25	5	5
Parathion	0,15	0,05	3
Dipterex	3	0,75	4

La figure 27 donne les droites ld-p obtenues à la 181e génération de R (I.N.A.) et de S (I.N.A.) avec le D.D.T. ainsi que celles de la souche O.M.S. Les DL 50 de ces souches s'établissent respec-

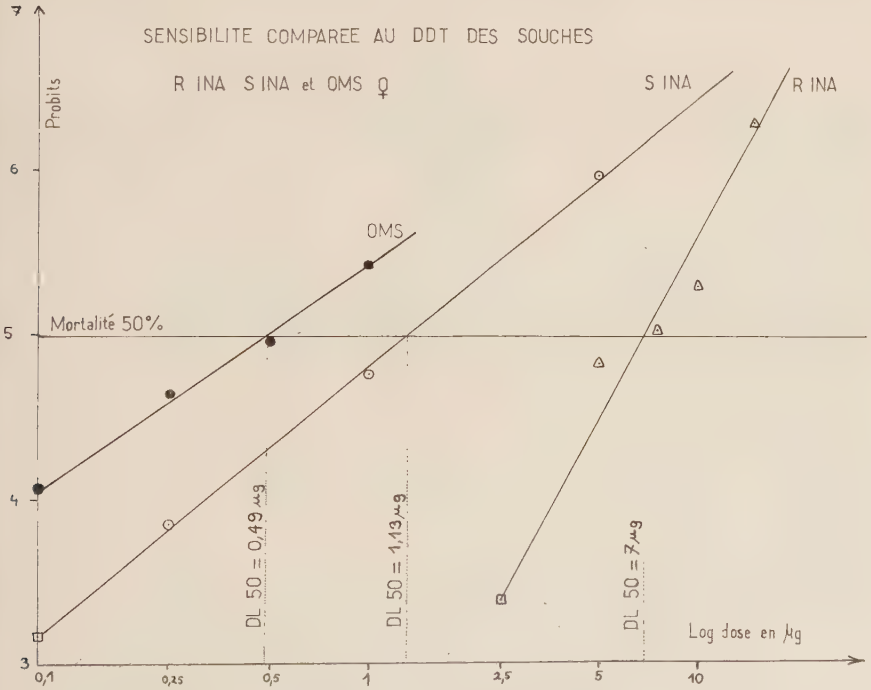


FIG. 27. — Sensibilité comparée au DDT des souches S (I.N.A.), R (I.N.A.) et O.M.S. Tests mortalité-dose effectués à la 181e génération des souches I.N.A. On constate une hétérogénéité plus forte dans S et O.M.S. En outre, la souche S (I.N.A.) s'avère nettement moins sensible que O.M.S.

tivement à 0,49 µg /♀ pour O.M.S., 1,13 µg /♀ pour S (I.N.A.) et 7 µg /♀ pour R (I.N.A.). En outre notre souche R paraît plus homogène que les deux autres ainsi qu'en atteste la pente plus forte de sa droite ld-p.

Nous avons ultérieurement établi le spectre de résistance de la souche R (I.N.A.) par rapport à la souche S (I.N.A.)Les tests furent effectués à la 130e génération sauf en ce qui concerne le lindane (R 171) et le D.D.T. (R 180). Les DL 50 ont été déterminées graphiquement dans la plupart des cas. Les insecticides ont été choisis dans chacun des groupes cités plus haut. Le tableau XXIII résume les divers résultats obtenus pour 11 substances toxiques, figurant parmi les plus utilisées.

TABLEAU XXIII

SPECTRE DE RÉSISTANCE DE LA SOUCHE R (I.N.A.) AUX PRINCIPAUX TYPES D'INSECTICIDES SYNTHÉTIQUES

INSECTICIDE	GROUPE	DL 50 EN µG /♀			COEFFICIENT DE RÉSISTANCE DL 50 R (I.N.A.) / DL 50 S (I.N.A.)
		O.M.S.	S (I.N.A.)	R (I.N.A.)	
Lindane	II	0,037	0,030	3,47	116
Endrin			0,04	1,4	35
Dieldrin			0,03	120	4 000
Aldrin			0,035	15	428
D.D.T.	I	0,5	1,13	7	6,3 (*)
Méthoxychlore			0,4	4,5	11
Parathion	III		0,015	0,04	2,66
Fenthion			0,024	0,05	2,1
Diazinon			0,045	0,08	1,8
Dipterex			0,2	0,6	3
Pyréthrine synthétique	IV	0,05	0,08	> 0,1	> 1 (**)

(*) La souche S (I.N.A.) ne présente pas une sensibilité tout à fait normale au D.D.T. bien qu'elle n'ait jamais eu de contact avec cette substance. Si l'on compare la DL 50 de la souche R (I.N.A.) avec celle de la souche O.M.S., on trouve un coefficient de résistance de 14 fois, valeur plus proche de la réalité.

(**) Il faut interpréter ce symbole comme légèrement supérieur à 1, remarquons aussi que la souche R (I.N.A.) est deux fois plus tolérante que la souche OMS aux pyréthrines synthétiques.

L'étude du spectre de résistance de la souche R (I.N.A.) (fig. 28) nous montre que cette souche a développé une résistance générale aux composés du groupe II. La détermination des DL 50 des femelles pour les cyclopentadiènes a confirmé les résultats partiels obtenus dès la 65e génération : à l'image des conclusions de Busvine, déjà

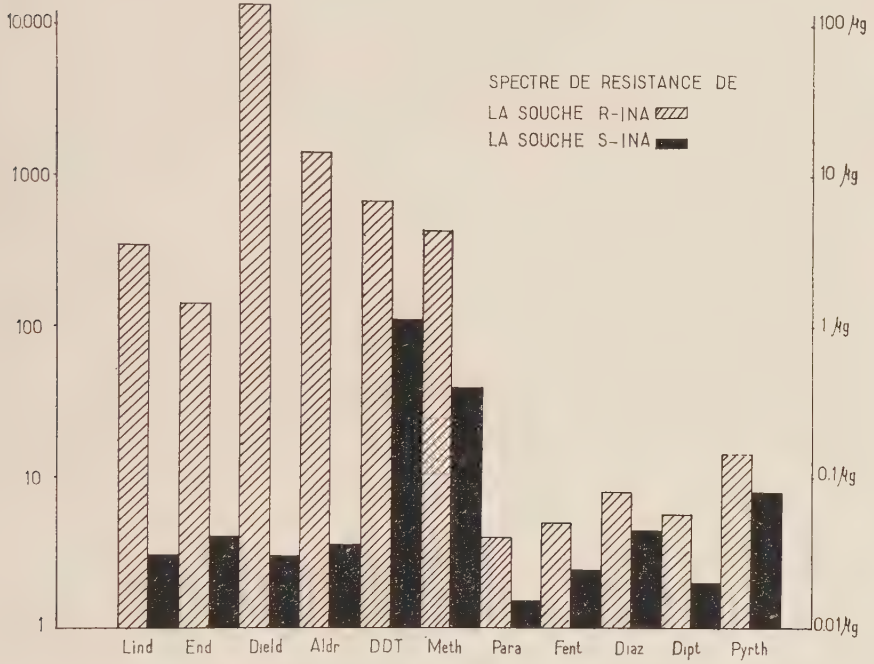


Fig. 28. — Spectre de résistance de la souche R (I.N.A.) aux principaux insecticides de synthèse, comparée avec la souche S (I.N.A.).

citées plus haut, nous avons trouvé que le cœfficient de résistance au dieldrin (× 4000) et à l'aldrin (× 428) est nettement supérieur à celui obtenu pour le lindane (× 116). Notons cependant que dans la souche R (I.N.A.) ce niveau est tout à fait exceptionnel. Alors que les DL 50 pour le dieldrin et le lindane sont identiques dans une souche normale, celle pour le dieldrin est 40 fois supérieure à celle pour le lindane de la souche R (I.N.A.) (ces rapports sont respectivement de 6 dans la souche Uruguay de Busvine, et de 3 dans la souche Naidm « Shot-Gun » de Decker et Bruce).

Un autre caractère interessant réside dans la forte tolérance au D.D.T. et aux autres composés du groupe I apparue dans la souche R (I.N.A.) (cœfficient de résistance supérieur de 10 fois à la souche standard O.M.S.).

D'autre part, la souche R (I.N.A.) n'est de sensibilité normale pour aucun insecticide organophosphorique, ce qui est tout à fait exceptionnel pour une souche sélectionnée au seul contact d'un insecticide du groupe II. L'accroissement du CL 50 a été 4 fois dans le cas du Dipterex (cf. tableau XXIII) ce qui suffit pour rendre inefficace ce composé dans la pratique des traitements.

Enfin, des tests effectués avec certaines pyréthrines synthétiques montrent aussi une tolérance significative à ces composés. La DL 50 de la souche R (I.N.A.) est de 0,1 µg/♀ (cependant la droite ld-p montre une hétérogénéité avec 20 p. 100 d'individus dont la DL 50 est de 0,5 µg/♀), alors que celle de la souche O.M.S. est de 0,05 µg/♀.

La souche R (I.N.A.) élevée uniquement au contact du lindane, possède en définitive un spectre de résistance très étendu. Cette polyrésistance, très forte pour les composés du groupe II, est aussi fort nette pour ceux du groupe I. D'autre part, la souche R (I.N.A.) possède une tolérance très nette pour les esters phosphoriques et même pour les pyréthrines synthétiques.

IV. — ROLE DU SEXE DANS LA TRANSMISSION DE LA RÉSISTANCE AU LINDANE DE LA SOUCHE R (I.N.A.)

Nous avons essayé de déterminer s'il existait une prépondérance de l'un ou de l'autre sexe dans la transmission de la résistance au lindane de la souche R. (I.N.A.). Dans ce but, nous avons effectué des croisements entre souche sensible et résistante du type : ♀ R × ♂ S et ♀ S × ♂ R. Habituellement de tels croisements sont destinés à voir s'il existe un mode d'hérédité lié au sexe. Mais nous ne testons ici dans les descendances F^1, que les femelles, pour lesquelles, nous l'avons indiqué, la standardisation précise de ces tests permet seule de déceler de faibles différences du niveau de résistance. On pourrait s'attendre, si un facteur cytoplasmique est en cause, à ce que la descendance des F^1 (♂ S × ♀ R) soit plus résistante que celle des

F^1 inverses; à l'opposé, si cette résistance se transmet selon une hérédité holandrique, les F^1 (♂ R × ♀ S) devraient être plus résistantes.

La comparaison des deux F^1 issues de ces hybridations n'a point montré de différence significatives dans les tests mortalité-dose. Après action du lindane, nous avons obtenu les pourcentages de mortalité suivants chez les femelles.

TABLEAU XXIV

Sensibilité au lindane de ♀ issues de croisements entre souches résistantes et sensibles (R-I.N.A. × S-I.N.A.). Cumul de données obtenues dans trois séries de croisements

Dose en µg/♀	F1 (♂ R × ♀ S)		F1 (♂ S × ♀ R)	
	Mortalité en 24 h	Mortalité p. 100	Mortalité en 24 h	Mortalité p. 100
0,1	4/75	5,3	2/75	2,65
0,3	154/300	51,3	165/300	55

Cependant nous avons obtenu dans les tests « mortalité-temps » des courbes lt-p présentant un fort décalage en faveur de la descendance des ♀ résistantes. Ainsi, à la dose de 0,2 µg/cm², 50 p. 100 des femelles issues de croisements (♀ S × ♂ R) sont knock-down après 5 heures de contact, alors que le TL 50 est voisin de 15 heures pour les ♀ provenant de croisements (♀ R × ♂ S) (fig. 29). Le point d'inflexion observé dans ces courbes provient de ce que la concentration utilisée, voisine de la CL 70, ne provoque donc pas une mortalité totale de la population testée, ce qui explique la tendance asymptotique de la courbe vers une proportion de morts comprise entre 60 et 70 p. 100.

En définitive, les croisements réciproques effectués sur nos souches R (I.N.A.) et S (I.N.A.) montrent une résistance légèrement supérieure des individus F^1 (♀ R × ♂ S). Cependant, l'écart n'est pas suffisant pour affirmer que la résistance au lindane dans la souche R (I.N.A.) est de nature cytoplasmique à moins d'admettre que les ♂ sont aussi susceptibles de transmettre des plasmagènes.

L'étude de ces données numériques montre aussi que le caractère de résistance au lindane présente une dominance incomplète sur le caractère « sensible ». En effet, la dose de 0,4 µg/♀ provoque une mortalité proche de 50 p. 100 dans les deux F^1. Cette DL 50 est donc 10 fois supérieure à celle de la souche S (I.N.A.) et environ

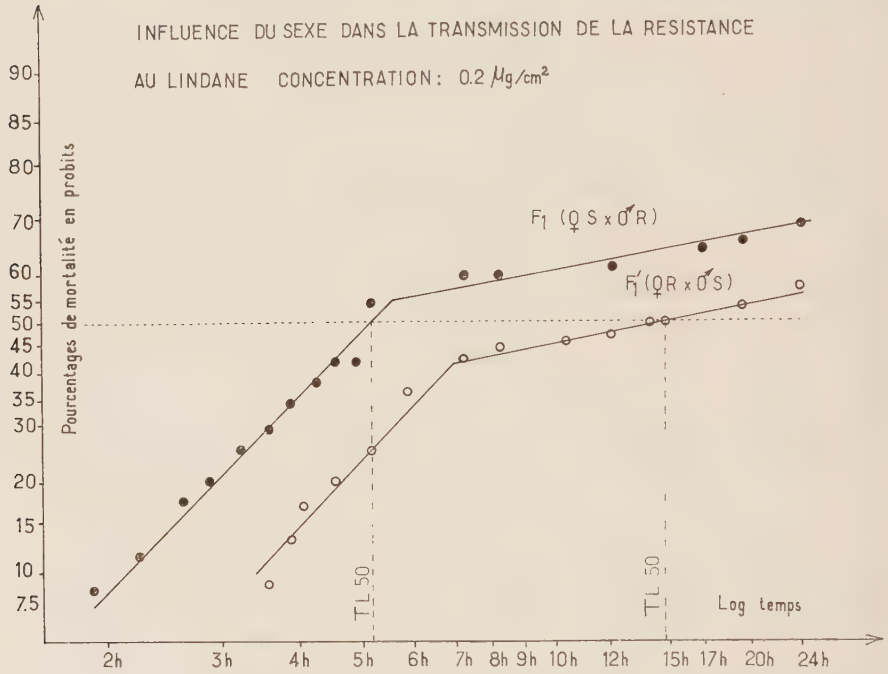


Fig. 29. — Comparaison de la sensibilité au lindane de femelles issues de croisements ♀ R × ♂ S (F'1) et ♀ S × ♂ R (F1). On constate que le TL 50 des femelles issues de croisements avec des femelles résistantes (F'1) est nettement supérieur à celui des descendants du croisement inverse (F1).

10 fois inférieure à celle de R (I.N.A.). De même, la concentration de 0,2 µg /cm² provoque une mortalité de 65 p. 100 environ en 24 heures dans les F^1 alors qu'elle donne une mortalité totale dans S (I.N.A.) et nulle dans R (I.N.A.).

Pour compléter ces expériences de croisements réciproques, nous avons isolé, à partir de la souche S (I.N.A.), plusieurs lignées résistantes par action sélective du lindane sur les adultes d'un seul

sexe ou des deux sexes, dans le but de voir si le caractère « résistance » se manifeste de façon prépondérante dans la descendance des femelles ou des mâles traités. Nous avons effectué ainsi pendant 10 générations successives, une application acétonique de cet insecticide, dès l'éclosion des imagos, et sélectionné à partir des individus traités trois souches dénommées respectivement :

FR (♂) dans laquelle seuls les ♂ furent exposés à un contact insecticides.

FR (♀) dans laquelle seules les ♀ furent exposés à un contact insecticide.

FR dans laquelle les deux sexes furent exposés à un contact insecticide.

La sélection a été entreprise en traitant 200 ♂ et 200 ♀ de S (I.N.A.) avec une dose de 0,5 µg de lindane par mouche, dose qui a provoqué 94,5 p. 100 de mortalité parmi les ♂ et 89,5 p. 100 de mortalité parmi les femelles. La souche FR (♂) fut obtenue en croisant 6 ♂ survivants avec des femelles non traitées la souche FR (♀) à partir de 16 ♀ survivantes croisées avec des mâles non traités, enfin la souche FR, par croisement de 5 ♂ et de 5 ♀ survivantes.

La dose de 0,5 µg nous étant parue trop élevée et compliquant la reproduction des souches à cause du petit nombre de survivants, en particulier des ♂, et de la plus faible fécondité des ♀ traitées, les générations suivantes furent traitées avec 0,2 µg de lindane par individu.

L'augmentation de résistance s'est avérée très rapide; ainsi à la 3e génération, la mortalité obtenue avec 0,5 µg par femelle n'était plus que de 68 p. 100 pour FR (♂), 53 p. 100 pour FR (♀) et 52 p. 100 pour FR. En dix générations, l'accroissement de résistance fut considérable. Le tableau XXV montre qu'à la dose de 0,5 µg la mortalité obtenue était inférieure à 7 p. 100 dans toutes les souches, alors qu'elle s'élevait à 90 p. 100 dans la souche sensible initiale (1). La détermination graphique des DL 50 d'après les droites ld-p (fig. 30) montre que celles-ci valent respectivement 1,5 µg/♀ pour la souche FR (♀) et 1,15 µg/♀ pour FR et FR (♂). Il y a donc eu accroissement du cœfficient de résistance au lindane de 40 fois en dix

(1) De même la mortalité est nulle avec 0,2 µg/mouche alors que cette dose tue 85 p. 100 des ♀ dans S (I.N.A.).

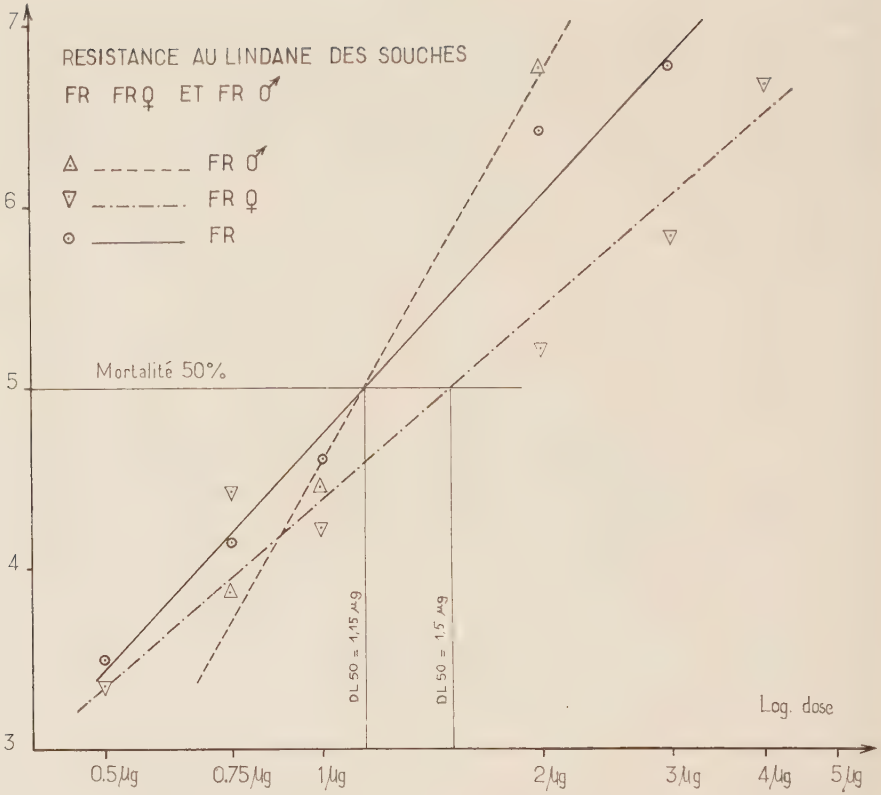


Fig. 30. — Résistance au lindane de femelles de mouches domestiques appartenant aux souches FR, FR (♀) et FR (♂) après 10 générations de sélection. La DL 50 de ces souches est voisine, ainsi qu'en attestent les faibles écarts existants entre leurs droites *ld-p*. Ces trois souches sont issues d'une même population sensible ce qui montre que le niveau de résistance atteint est indépendant du sexe. Il semble toutefois exister une légère supériorité des femelles dans la genèse du caractère résistant sous l'effetde l'insecticide et dans son mode de transmission.

générations puisque la DL 50 initiale était de 0,03 µg /♀ dans la souche S (I.N.A.).

L'étude de ces données numériques et du diagramme correspondant montre qu'il n'y a pas de différence importante entre les sexes dans la transmission de la résistance : que l'on traite les mâles seuls, les femelles seules, ou les deux sexes simultanément, le niveau de résistance atteint en dix générations est comparable. Toutefois, les mâles paraissent conférer une résistance légèrement plus faible

TABLEAU XXV

Mortalité des femelles a la 10e génération des souches FR ♂, FR ♀ et FR dans les tests par microgouttes

Dose en µg / ♀	FR		FR ♂		FR ♀	
	Mortalité	% de mortalité	Mortalité	% de mortalité	Mortalité	% de mortalité
0,2	0 /25	0	0 /40	0	0 /15	0
0,5	3 /45	6,6	0 /40	0	1 /20	5
0,75	5 /25	20	9 /70	12,8	7 /25	28
1	26 /75	34,6	26 /90	29	11 /50	22
2	23 /25	92	48 /50	96	2 /50	58
3	24 /25	96	60 /60	100	20 /25	90
4	49 /50	98	6	—	39 /41	95

que les femelles. Ainsi, nous trouvons une DL 50 de 1,5 µg /♀ pour la souche FR ♀ et de 1,15 µg /♀ pour FR ♂.

Cette expérience montre aussi dans une certaine mesure, que d'autres facteurs qu'une sélection génétique interviennent dans l'acquisition de la résistance. Puisque le caractère de résistance n'est pas dominant dans nos souches, la DL 50 de la lignée obtenue en traitant les deux sexes devait être nettement supérieure à celle obtenue par intoxication des seuls mâles ou des seules femelles, or l'expérience montre le contraire.

V. — VARIATION DE LA RÉSISTANCE DE LA MOUCHE DOMESTIQUE AU LINDANE SOUS L'INFLUENCE DE FACTEURS NON GÉNÉTIQUES

A. — sur l'absence apparente de facteurs sélectifs dans l'isolement de la souche r (i.n.a.).

1°. — *Bionomie comparée des souches R (I.N.A.), S (I.N.A.) et O.M.S.*

Malgré de nombreux examens portant sur plusieurs centaines d'adultes des deux souches, nous n'avons observé aucune différence morphologique entre souches sensibles et résistantes. L'étude com-

parée du poids des pupes des souches R, S et O.M.S. ne nous a pas révélé un poids moyen supérieur des individus R (I.N.A.), bien que cette souche puisse être considérée par certains auteurs comme présentant une forte tolérance de vigueur (1). Ainsi, nous avons trouvé pour un lot de 1000 pupes (R (I.N.A.) un poids moyen de 24,16 mg (sm = ± 0,709 mg) contre 23,33 mg (sm = ± 2,06 mg) pour 4 lots de 900 pupes de la souche O.M.S. Les pesées effectuées sur les pupes et les adultes de S (I.N.A.) n'ont pas montré de différence significative par rapport à R (I.N.A.). Si l'on attribuait la résistance de la souche R (I.N.A.) à un simple fait d'une plus grande vigueur, celle-ci ne réside donc point dans une taille plus forte que celle des individus sensibles.

Ces résultats concordent avec les travaux antérieurs ayant eu pour objet de mettre en évidence des différences entre souches résistantes et sensibles. Leur étude révèle que dans la plupart des cas, il n'existe aucune distinction fondamentale entre celles-ci, à l'exception d'une aptitude supérieure à la détoxification chez les souches résistantes. Citons parmi ces publications ayant eu pour objet de relever de telles différences, celles de Pimentel, Schwardt et Dewey (1951) sur une souche de *Musca domestica* (« Tompkins ») celle de March et Lewallen (1950) sur la souche « Bellflower » et celle de Babers, Pratt et Williams (1953) sur la souche « Orlando ». Ces auteurs n'ont trouvé aucune différence significative entre mouches résistantes et sensibles pour les caractères suivants : production des œufs, durée du développement embryonnaire, pourcentage d'éclosion, survie larvaire, durée du stade nymphal, poids et pourcentage de sortie des pupes, poids des adultes, sex ratio, durée de la période précédant la ponte, longévité des adultes, durée du cycle vital de l'œuf à l'œuf (2).

(1) Ce terme a été créé par Hoskins et Gordon (1956) pour distinguer des cas de résistance vraie certaines souches où la résistance ne proviendrait pas de mécanismes spécifiques, par exemple d'une détoxification (cf. p. 186).

(2) Il existe de rares cas dans lesquels on a pu mettre en évidence des différences morphologiques entre souches résistantes et sensibles : Milani (1954) a remarqué que la fréquence d'une anomalie de nervation alaire dénommée « Plexus » était particulièrement élevée dans une souche D.D.T.-résistante de Latina en Italie. Chadwick (1954) a aussi observé le même phénomène dans une souche résistante au DFP, les mouches à nervation anormale étant de résistance supérieure aux autres individus. Wiesmann (1947) à mis en évidence une épaisseur supérieure de la cuticule tarsale chez des mouches domestiques D.D.T.-résistantes, caractère qui n'a jamais plus été observé par d'autres auteurs dans d'autres souches.

Le seul caractère différentiel qui pourrait expliquer la ségrégation des souches résistantes réside en une durée supérieure de la vie larvaire chez certaines d'entre elles par rapport à celle des souches normales sensibles. Ce phénomène, observé pour la première fois par Pimentel et ses coll. (1951) dans la souche « Tompkins » D.D.T. résistante. Ces auteurs constatèrent que les asticots de cette souche se nymphosaient en moyenne 9 à 10 jours après l'éclosion, contre 5 à 6 jours seulement pour les asticots de souches sensibles normales. En outre, la variance de la durée de la vie larvaire des individus résistants était supérieure à celle de la souche témoin, ainsi qu'en témoignait la courbe des fréquences des durées de vie publiée par ces auteurs.

Gagliani (1952) et Norton (1953) ont observé au contraire des souches résistantes dont les asticots se développaient plus rapidement que ceux des souches normales. Cependant Norton et Chadwick (1954) citent aussi des souches présentant une durée de vie larvaire supérieure à celle des asticots de mouches sensibles.

Pimentel et ses Coll. ont aussi observé un autre fait remarquable sur la souche D.D.T. — résistante « Tompkins » : les adultes issus d'asticots à vie larvaire longue étaient dix fois plus résistants que ceux qui se nymphosaient les premiers. Dans le même sens citons les expériences de Decker et Bruce (1952) lesquels mentionnent que les lignées issues des premières femelles écloses seraient plus sensibles que celles provenant de femelles sorties tardivement de pupes. Mac Kenzie et Hoskins (1954) ont réussi à séparer dans une souche de mouches domestiques résistantes au D.D.T. deux lignées, en sélectionnant les individus se nymphosant les premiers et les derniers. Ils ont obtenu de cette façon une lignée tardive se nymphosant après un temps supérieur de 50 p. 100 à la normale et dont la résistance a augmenté de 6 à 8 fois en dix générations, par rapport à la souche dont elle est issue. A l'opposé les individus précoces montraient une légère atténuation de résistance. Ces auteurs considèrent que le retour à l'état sensible des mouches résistantes séparées du contact insecticide, résulterait de cette différence de bionomie. Les larves sensibles à développement rapide élimineraient peu à peu les résistantes à croissance lente, en l'absence de pression

sélective, si l'on ne prend point la précaution d'attendre que la pupaison soit totale avant de transférer les pupes dans les cages d'élevage des adultes, ou si l'on recueille les pontes trop précocement, avant que les femelles à nymphose tardive ne soient arrivées à maturité.

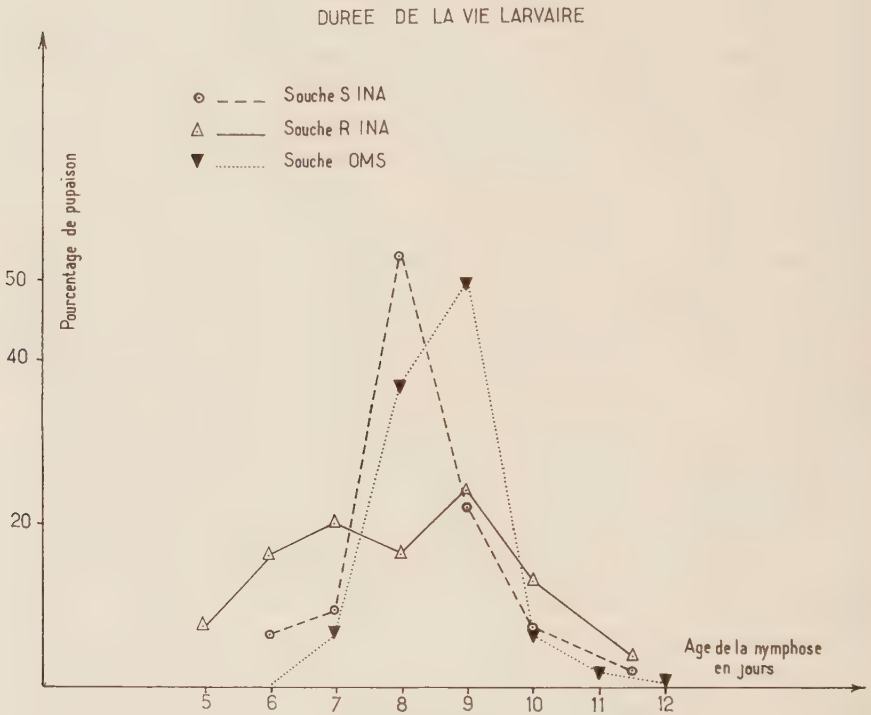


Fig. 31. — Durée de la vie larvaire dans les souches R (I.N.A.), S (I.N.A.) et O.M.S. On remarque une concordance des maxima de fréquence de la pupaison dans les 3 souches, bien que la période de pupaison soit plus étalée dans R (I.N.A.).

L'examen des données du tableau XXVI et de la fig. 31 montre que la durée moyenne de la vie larvaire est identique dans les souches R (I.N.A.) S (I.N.A.) et O.M.S. Les trois polygones de fréquence présentent une superposition de la classe de plus grande fréquence Ainsi, les cumuls des pupaisons quotidiennes montre que 4 jours après le début de la nymphose, 60 p. 100 des asticots se sont nymphosés dans R (I.N.A.) contre 60.5 p. 100 dans S (I.N.A.) et 67 p. 100

dans O.M.S. Cependant la variance de la vie larvaire est nettement supérieure dans R (I.N.A.) à celle des souches sensibles, car l'on rencontre dans cette souche une proportion plus importante d'individus se nymphosant plus précocement par rapport aux souches sensibles.

Nous avons toujours attendu que tous les asticots se soient nymphosés pour prélever les pupes, et les pontes n'ont été récoltées que 10 jours après l'éclosion des premiers adultes dans la souche R (I.N.A.). La résistance au lindane dans le cas étudié ici ne peut donc provenir d'une sélection involontaire des larves à nymphose tardive. Nos résultats ne concordent pas avec ceux de Pimentel et coll. ou de Chadwick. Rappelons d'autre part que Boggild et Keiding ont décrit (1958) une souche D.D.T. — résistante de *Musca domestica* dans laquelle le développement larvaire s'effectuait beaucoup plus rapidement que dans la population originale sensible, quelles que soient les conditions d'élevage. Il paraît donc peu vraisemblable que le retour des souches résistantes à l'état sensible antérieur, en l'absence d'insecticide, puisse s'expliquer par une sélection des individus sensibles, au détriment des résistants, dont la durée de vie larvaire serait plus longue.

TABLEAU XXVI

Fréquence de la pupaison selon l'age dans les souches R (I.N.A.), S (I.N.A.) et O.M.S. (données établies a partir de lots de 1 000 asticots, a la température de 18-20 °C)

Age des larves en jours au moment de la pupaison	Pourcentage des larves se nymphosant en 24 h		
	R (I.N.A.)	S (I.N.A.)	O.M.S.
5	7,11		
6	16,21	6,52	
7	16,90	9,21	6,24
8	16,37	52,78	36,49
9	24,00	21,88	49,20
10	12,94	7,48	6,20
11	5,8	2,11	1,56
12	0,47		0,30

2e. — *Action des doses subléthales de lindane sur la longévité de la souche R (I.N.A.).*

Nous fûmes surpris de constater dès le début de nos investigations que les mouches de la souche R (I.N.A.) élevée au contact du lindane ne semblaient point affectées par les traces de toxique qu'elles devaient absorber de façon continue dans les cages badigeonnées avec cet insecticide. Ces mouches, placées dés l'éclosion dans de telles cages, ne présentaient après une période d'une dizaine de jours qu'une mortalité de 2 à 4 p. 100, chiffre comparable à celle du témoin. Une vérification précise de ce fait nous fit acquérir la certitude que la souche R (I.N.A.) se trouvait réellement en présence de doses non léthales : deux lots de 500 pupes de la souche R furent mis à éclore l'un dans une cage badigeonnée, l'autre dans une cage non traitée. Dans ces conditions, la mortalité s'élevait dix jours après l'éclosion à 7 morts sur 477 adultes dans les cages traitées et de 6 sur 354 dans le témoin soit respectivement 1,5 et 1,7 p. 100. Cette différence était évidemment aléatoire.

Nous avons par la suite comparé à plusieurs reprises la longévité des mouches issues de deux lots de 1000 pupes, placées dans les deux types de cages étudiées. Nous avons compté quotidiennement la mortalité des mâles et des femelles issues de chaque lot, jusqu'à ce que la totalité de la population ait péri de mort naturelle, ce qui correspond à deux mois environ, pour les femelles ayant la plus grande longévité, à la température de nos élevages (22 °C). Le tableau XXVII et la figure 32 font état des résultats de nos expériences qui portaient sur la 140e génération de la souche R (I.N.A.). Il est évident que dans les deux cas la mortalité est absolument identique; trois autres expériences ont conduit à des résultats similaires.

On peut donc conclure que la longévité des mouches de la souche R (I.N.A.) n'est pas affectée par les traces de lindane auxquelles elle est en contact de façon permanente à l'état adulte. Le tableau XXVIII montre en effet que les longévités moyennes furent respectivement de 22,5 ± 5,75 j. pour les mâles et 31,75 ± 11,6 j. pour les femelles en contact avec l'insecticide, contre 22,34 ± 5,7 j. pour les mâles et 27,52 ± 10,1 j pour les femelles élevées en l'absence de lindane.

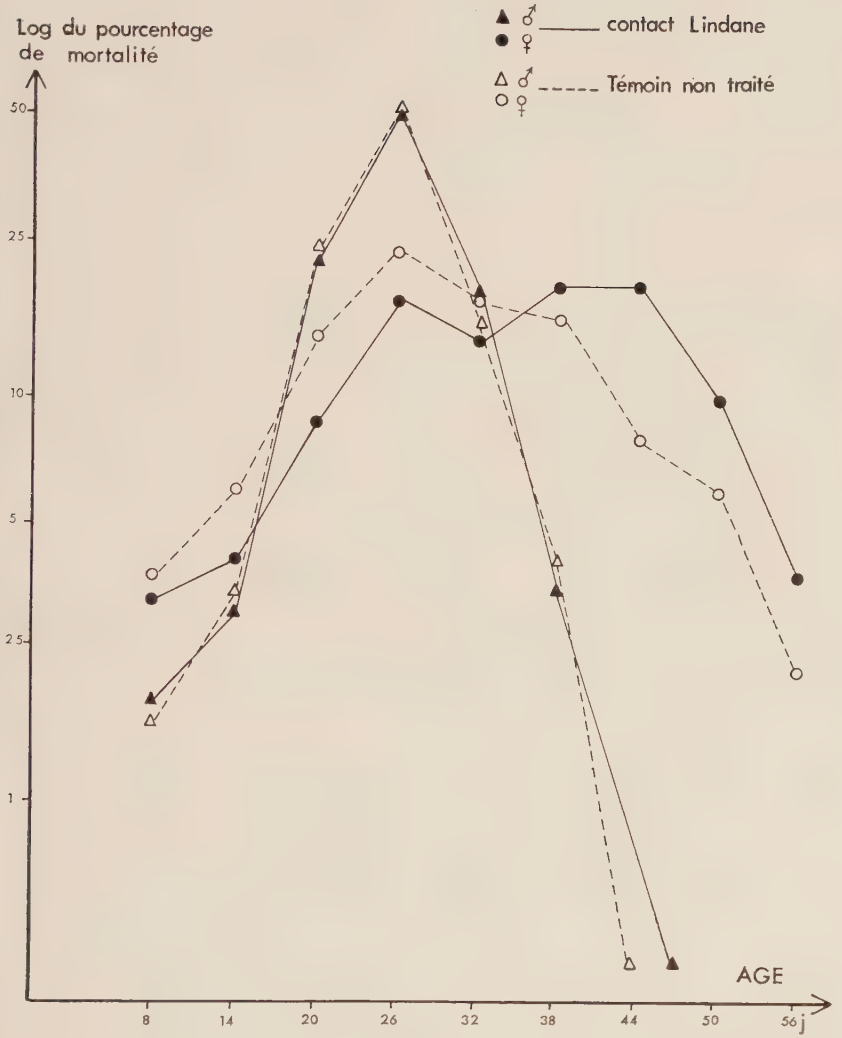


Fig. 32. — Comparaison de la longévité des individus élevés dans des cages badigeonnées de lindane ou en l'absence de cet insecticide. Les polygones de fréquence se superposent sensiblement aussi bien pour les mâles que pour les femelles (souche R (I.N.A.)) 140e génération.

Nous pouvons donc affirmer que depuis la 65e génération (au moins) les adultes de la souche R (I.N.A.) ont été élevés en présence de doses réellement subléthales de lindane. Bien qu'il soit difficile

TABLEAU XXVII

Étude de la mortalité naturelle dans la souche R (I.N.A.) a la 140e génération en présence ou en l'absence de lindane

Classes d'age	1 000 pupes ayant éclos en cage traitée				1 000 pupes ayant éclos en cage sans insecticide			
	Mâles		Femelles		Mâles		Femelles	
	Nombre de morts	‰ de mortalité	Nombre de morts	‰ de mortalité	Nombre de morts	‰ de mortalité	Nombre de morts	‰ de mortalité
0 à 8 jours. . .	8	18,1	12	31,8	8	16,2	17	36,1
8 à 14 jours. . .	13	29,4	15	39,7	17	34,3	28	59,4
14 à 20 jours. . .	99	224,4	33	87,5	118	238,4	67	142,2
20 à 26 jours. . .	221	501,1	65	172,4	253	511,4	115	244,1
26 à 32 jours. . .	83	188,2	52	137,8	77	155,5	85	180,5
32 à 38 jours. . .	15	34	72	191	20	40,4	78	165,6
38 à 44 jours. . .	1	2,2	73	193,6	2	4	43	91,3
44 à 50 jours. . .	1	2,2	39	103,4	0		28	59,4
50 à 56 jours. . .	0		16	42,4			10	21,2
Total.	441	1 000	377	1 000	495	1 000	471	1 000

d'évaluer la concentration réelle d'insecticide à la surface des parois des cages badigeonnées, nous estimons qu'elle est actuellement nettement inférieure à 1 µg/cm² et probablement de l'ordre du 1/20e de la CL 50. Cette évaluation est fondée sur la mortalité provoquée dans un échantillon de mouches sensibles mises dans une cage d'élevage R (I.N.A.).

TABLEAU XXVIII

Longévité relative des males et des femelles de la souche R (I.N.A.) élevés, soit au contact de lindane dans des cages badigeonnées a des doses subléthales, soit en l'absence d'insecticide

R (I.N.A.) Génération 140	Males		Femelles	
	Longévité moyenne	Écart-type	longévité moyenne	Écart-type
Mouches au contact du lindane	22,58 j	± 5,75 j	31,75 j	± 11,6 j
Témoin élevé sans contact	22,34 j	± 5,74 j	27,52 j	± 10,1 j

3e. — *L'accroissement de la résistance au lindane de la souche R (I.N.A.) au contact de doses réellement subléthales.*

Il ressort de nos tests que la résistance de la souche R (I.N.A.) s'est accrue de façon lente et continue de génération en génération. En effet, les droites ld-p et lt-p dressées à la 95e génération. différaient déjà sensiblement de celles obtenues à la 68e, cependant les écarts calculés étaient faibles à la limite des intervalles de confiance. L'étude de la mortalité (tests photographiques) en fonction du temps, effectuée à la 141e génération confirma que les doses subléthales avaient provoqué un accroissement de la résistance dans la souche R (I.N.A.) sans qu'une action sélective de l'insecticide soit intervenue entre la 68e et la 141e génération.

De même, la mortalité observée dans des lots de mouches de la souche R (I.N.A.) exposées en boîtes de Petri à une concentration

de 20 µg/cm² et évaluée après 24 heures de contact, diminue sensiblement au cours des générations successives comme le prouvent les résultats suivants :

Génération	65	90	157	182
Mortalité après 24 heures	95 %	83 %	70 %	65 %

Les droites lt-p montrent un allongement considérable du TL 50. Quoique lente, l'augmentation de résistance devient particulièrement nette si l'on se rapporte aux résultats des tests « mortalité-concentration » effectués en boîtes de Petri et que résume le tableau XXIX. Ce dernier fait état des données numériques relatives à la plus longue expérimentation dont nous disposons : puisqu'elles portent sur des insectes d'une même souche élevés pendant 7 années et 103 générations consécutives. On remarque les fortes différences de mortalité entre les 68e et la 171e génération, pour des doses de 1 µg/cm² et 10 µg/cm². Nous avons calculé à partir de ces chiffres les équations des droites de régression, les CL 50 et les intervalles de confiance pour une sécurité de 95 p. 100 (Tableau XXX). Cela nous a conduit aux résultats suivants :

Génération R 68 $Y = 5{,}093 + 1{,}238\ (X - 1{,}120)$ ($\chi^2 = 2{,}93$ pour 2 DL)
Génération R 171 $Y = 4{,}928 + 1{,}206\ (X - 1{,}856)$ ($\chi^2 = 12$ pour 3 DL)

Nous déduisons de ces expressions que la CL 50 est de 8,15 µg/cm² (+ 1,77 et — 1,32 µg) pour la 171e génération contre 1,33 µg/cm² (+ 0,446 et — 0,335 µg) pour la 68e génération. La différence de CL 50 entre ces deux générations est hautement significative ainsi qu'en attestent les valeurs limites des intervalles de confiance. Elle s'est accrue de plus de 6,5 fois en 103 générations ce qui est considérable, surtout si l'on tient compte du fait que cette augmentation du niveau de résistance s'est effectuée au contact de doses qui ne provoquaient aucune mortalité, donc aucune « pression sélective » dans la population considérée, et que le niveau de résistance atteint à la 68e génération était déjà élevé.

L'étude de la variation de la DL 50 avec des tests par microgouttes n'a pas donné de résultats aussi nets que ceux par contact avec des papiers filtres imprégnés, car elle ne fut entreprise qu'à partir de la 120e génération seulement, ne disposant pas jusqu'alors de l'appareillage nécessaire pour ce type de tests (Microseringue Agla).

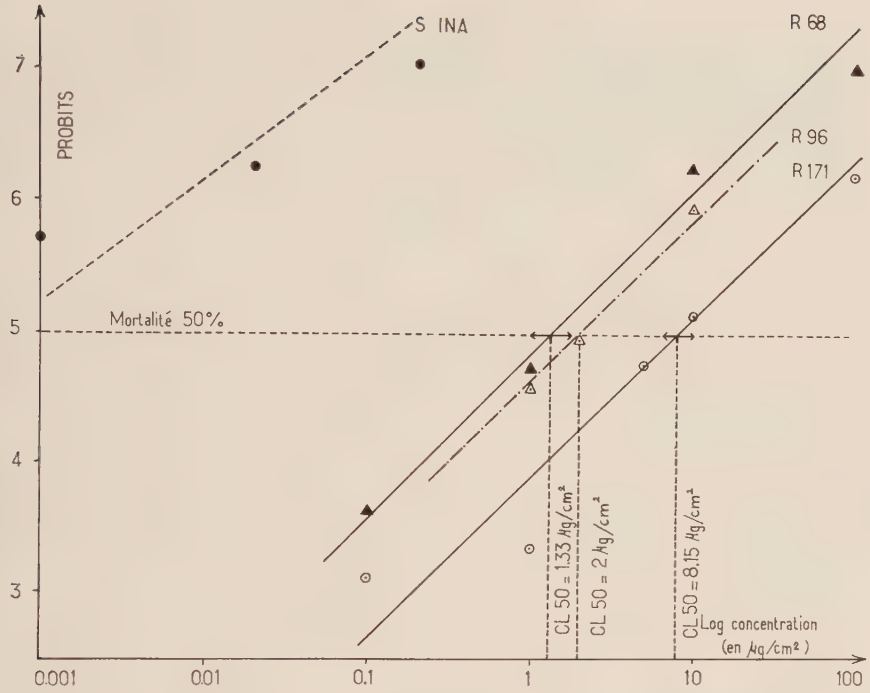


FIG. 33. — Accroissement de la résistance de la souche R (I.N.A.) en présence de concentration subléthales de lindane entre la 68e et la 171e génération. Les intervalles de confiance ont été figurés par les flèches. On remarque un accroissement de résistance sans modification de pente des droites *ld-p* au cours de ces 103 générations, puisque ces droites sont restées parallèles entre elles.

TABLEAU XXIX

COMPARAISON DE LA RÉSISTANCE AU LINDANE DES 68e, 96e ET 171e GÉNÉRATIONS DE LA SOUCHE R (I.N.A.) DANS DES TESTS PAR CONTACT SUR PAPIERS FILTRES IMPRÉGNÉS (MOUCHES ISSUES D'UN MEME GROUPE DE PONTES ET AGÉES DE 7 J)

Dose en µg/cm²	Génération 68		Génération 96		Génération 171	
	Nombre d'individus testés	% de mortalité	Nombre d'individus testés	% de mortalité	Nombre d'individus testés	% de mortalité
100	100	98			100	89
10	100	90	100	84	300	56
5					200	41
2			200	49,5		
1	100	40	100	35	100	5
0,1	100	9			100	3

TABLEAU XXX

Comparaison des constantes caractéristiques des générations 68, 96 et 171 de la souche R (I.N.A.) calculée d'après les résultats des tests indiqués dans le tableau précédent

Génération	CL 50		Écart-type	Int. de conf. pr 95 % de sec.	
	en U. log	en µg /cm²		en U. log	en µg /cm²
68	1,1239	1,33	± 6,46 × 10^{-2}	0,998 — 1,249	0,995 — 1,776
96	1,30	2	± 10^{-1}*	1,1 — 1,5	
171	1,9152	8,15	± 4,1 × 10^{-2}	1,834 — 1,99	6,830 — 9,918

(*) Déterminé graphiquement.

La détermination de la valeur maximum (1) observée, et non de la moyenne calculée, de la DL 50, nous a conduit aux résultats suivants :

Génération	120	130	140	150	160	170	180
DL 50 en µg /♀	2,5	4,2	4,8	7	6,8	6,5	7

Il ressort des données numériques précédentes, compte tenu des intervalles de confiance pour une sécurité de 95 p. 100 dans l'estimation de ces DL 50 (fig. 34) que la résistance de la souche R (I.N.A.) s'est accrue de 2,5 fois jusqu'à la 150e génération et tend depuis à se stabiliser à un niveau correspondant à la valeur de 7 µg /♀. Remarquons cependant que seules de nouvelles données numériques établies sur des tests portant sur une vingtaine de générations au minimum, permettront de conclure définitivement sur ce point. Quoiqu'il en soit, il y a eu un accroissement significatif de la DL 50 entre la 120e et la 180e génération.

(1) Nous comparons les DL 50 maximum à cause de la variation du niveau de résistance des individus testés selon l'âge. Il aurait été préférable de comparer la DL 50 d'individus du même âge, par exemple 36 heures, âge où la résistance est maximum, c'est le cas d'ailleurs de la plupart des DL 50 que nous publions ci-dessus. Mais dans les cas où nous n'avons pas fait cette détermination sur les individus d'un tel âge, nous avons indiqué la DL 50 la plus élevée obtenue au cours des tests que nous dénommons DL 50 maximum; celle-ci correspond évidemment à des échantillons dont l'âge était voisin de 36 heures (1 jour, 2 jours ou 2,5 j).

La concordance des divers résultats de tests permet d'affirmer que la résistance de la souche R (I.N.A.) s'est accrue de façon importante depuis sa mise en élevage. Cet accroissement s'est effectué de manière progressive et continue sans que l'on puisse invoquer une sélection — du moins au sens strict du terme — puisque cette

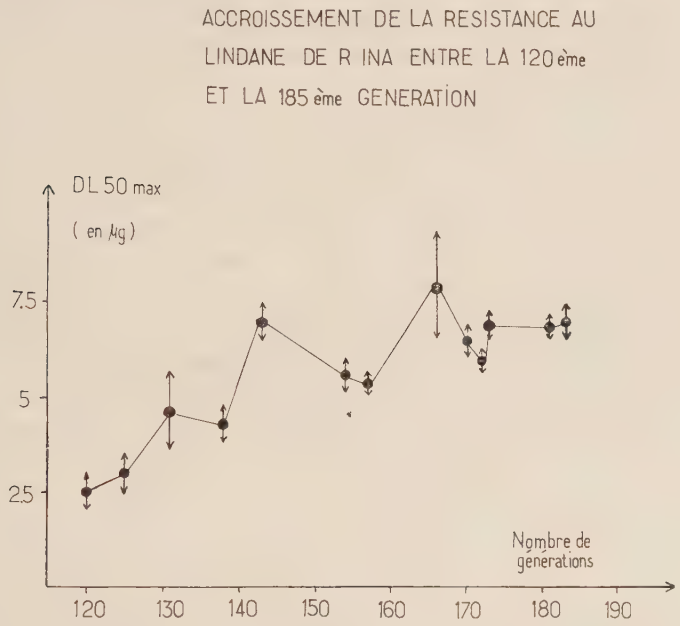


Fig. 34. — Variation de la DL 50 maximum de la souche R (I.N.A.) déterminée par les tests mortalité-dose, entre la 120e et la 181e génération. Les flèches portées de part et d'autre des points expérimentaux représentent la longueur des intervalles de confiance pour 95 p. 100 de sécurité.

souche n'a jamais présenté de mortalité sous l'effet de l'insecticide employé à des doses sublétales dans les élevages.

On peut certes faire remarquer que l'accroissement de résistance enregistré est modeste par comparaison avec les cœfficients considérables cités dans la littérature (plus de 1000 fois par exemple dans les expériences de Decker et Bruce). Mais ces derniers résultats furent obtenus par l'emploi de fortes concentrations, ayant provoqué des mortalités supérieures à la DL 90. De plus de telles souches obtenues en laboratoire sont exceptionnelles, la DL 50 des souches

résistantes au lindane est en règle générale d'une centaine de fois supérieure à la normale et les souches sauvages dépassent rarement un cœfficient de résistance de 20 à 30 fois. Nous avons déjà indiqué que la plupart des auteurs distinguent à la suite d'Hoskins et Gordon (1956) deux formes de résistance : la première, dite résistance classique, est caractérisée par des cœfficients de résistance élevés ou très élevés; la seconde, dénommée « tolérance de vigueur », conduirait tout au plus à des accroissements de ce cœfficient n'excèdant pas une dizaine de fois la DL 50 normale.

Cette tolérance de vigueur ne serait pas liée à un mécanisme de défense spécifique mais à une vigueur exceptionnelle de la souche : poids accru ou plus généralement, processus secondaires du métabolisme plus intenses venant suppléer en cas de déficience les mécanismes enzymatiques essentiels inhibés par l'agent toxique.

Hoskins et Gordon (1956) et Hoskins (1957-1960) considèrent que l'aspect des droites *ld-p* permet de savoir à quel type de résistance appartient la souche : dans le cas d'une résistance classique, les droites ld-p obtenues au cours de la sélection présentent une pente plus faible que celle de la souche initiale sensible. En effet, les générations intermédiaires renfermeraient une proportion croissante d'individus hybrides résistants (schématiquement de génotype Rs) et d'homozygotes (RR), tandis que la proportion d'individus sensibles (ss) diminuerait. La présence de ces divers phénotypes se traduirait selon ces auteurs, par une série d'inflexions dans la courbe ld-p ce qui diminue la pente de la droite de régression « moyenne ». Puis au fur et à mesure que les individus sensibles seraient éliminés par sélection, la pente de la droite *ld-p* augmenterait à nouveau pour redevenir finalement parallèle à celle de la souche initiale.

Dans les cas de résistance polygénique Hoskins (1960) a montré que les variations de la pente des droites *ld-p* seraient identiques au cas précédent. Il y a cependant un nombre d'autant plus élevé d'inflexions que les facteurs génétiques responsables de la résistance sont plus nombreux, et l'importance des inflexions varie en raison inverse du nombre de génotypes possibles, de sorte que dans les résistances multifactorielles, les points expérimentaux pourraient paraître alignés, pour les générations intermédiaires entre souche sensible et résistante.

Selon Hoskins et Gordon, la tolérance de vigueur se caractériserait par de plus faibles cœfficients de résistance « habituellement de quelques fois au plus supérieure à la normale ». Par ailleurs, les droites ld-p demeurent parallèles entre elles, même pour des générations intermédiaires. En effet, dans ce cas, les divers individus de la population étant tous de sensibilité homogène, il y aurait seulement élimination d'une petite proportion d'entre eux réputés « les plus faibles ». L'examen des droites ld-p de la figure 33 ferait classer la souche R (I.N.A.) dans un tel type de résistance, car les diagrammes montrent que les droites obtenues pour R 68, R 96 et R 171 sont demeurées parallèles entre elles. La souche R (I.N.A.) devrait donc être considérée non point comme une souche résistante au sens strict mais comme une population présentant une forte tolérance de vigueur; mais contrairement à la définition donnée par Hoskins, son cœfficient de résistance, supérieur à 100 fois, la classe parmi les résistances « classiques ». La distinction entre « tolérance » et « résistance » nous paraît assez arbitraire, les caractères intermédiaires de R (I.N.A.) confirmant l'ambiguité d'une telle classification. De plus aucune donnée expérimentale n'est venue jusqu'à présent confirmer qu'il existe réellement des mécanismes biochimiques connexes suppléant les processus principaux déficients dans les cas de tolérance.

4°. — *La réversion de la résistance au lindane dans la souche R (I.N.A.)*

Quelle que soit l'intensité de la sélection et la durée pendant laquelle des insectes ont été soumis au contact insecticide, on peut dire que la résistance obtenue ne se présente jamais comme un caractère stable; la suppression du toxique provoque tôt ou tard un retour à l'état sensible antérieur aussi bien dans les populations sauvages que dans les souches de laboratoire.

En général, la DL 50 rétrograde à son niveau antérieur en un nombre de générations égal ou inférieur à celui qui fut nécessaire pour atteindre la résistance maximum. King (1950) mentionne qu'une diminution brutale de résistance survint dès la seconde génération de mouches domestiques résistantes au D.D.T., prélevées en divers points des États-Unis. Dans d'autres cas, la résistance

s'est maintenue pendant quelque temps en laboratoire puis s'est mise à régresser rapidement. Ainsi Barber et Schmidt (1949) et Norton (1953) ont constaté la persistance pendant un an et 11 générations chez des mouches originaires de New York et tolérantes au D.D.T., suivie d'une régression nette en 8 mois. Il en est de même pour les souches de laboratoire : Pimentel, Schwardt et Dewey (1953), observèrent que la souche Naidm ayant atteint en 26 générations une très haute résistance au lindane (>1000) a ensuite perdu celle-ci en 20 générations par suppression du contact avec ce composé. Rappelons aussi que les rares cas où l'on a parlé d'une stabilité de la résistance sont assez discutables, d'autres auteurs ayant constaté que la souche réputée stable perdait tout de même sa tolérance (p.e. la souche « Orlando » de Metcalf et March, cf. plus haut).

La résistance aux insecticides est aussi réversible sur le terrain. Keiding (1963) cite plusieurs souches de *Musca domestica* résistantes au D.D.T., au lindane et aux divers organophosphates (Diazinon et Malathion entre autres) qui ont fait retour à un état relativement sensible après une suspension des traitements pendant plusieurs années.

Un nombre considérable d'exemples de ce genre abondent dans la littérature.

L'installation phénotypique du caractère de résistance et son retour à l'état sensible primitif ne sont actuellement contestés par aucun auteur. Toutefois, les interprétations divergent au sujet de sa nature exacte.

La plupart des auteurs expliquent ce phénomène par l'effet d'une sélection incomplète laissant persister dans la population des individus hétérozygotes sensibles et d'un linkage associant les facteurs de résistance à des gènes conférant une « plus faible vitalité (Hoskins et Gordon (1956). Dans diverses publications, Milani (1956 et suivantes), un des spécialistes les plus réputés de la génétique de la résistance aux insecticides, insiste aussi sur le moindre potentiel biotique des souches résistantes, qu'il attribue à une « homozygotie » excessive », tout en notant par ailleurs la difficulté sinon l'impossibilité de parvenir à une homozygotie absolue, dans le cas des résistances multifactorielles, ce qui explique la persistance des hétérozygotes dans de telles souches.

Nous avons étudié comment se produisait la régression de la résistance dans la souche R (I.N.A.). Les considérations précédentes nous ont conduit à effectuer de plus une étude comparative de la fécondité de la souche résistante R (I.N.A.) et de la souche sensible S (I.N.A.) qui en est issue (1), pour vérifier si dans ce cas, la résistance aux chloroorganiques s'accompagnait d'une diminution du potentiel biotique due à un inbreeding constant.

La sensibilité de la souche S (I.N.A.) est tout à fait normale puisque sa DL 50 est de 0,03 µg/♀ contre 0,035 µg/♀ pour la souche standard de l'O.M.S. Ce fait n'a rien d'exceptionnel puisque Sokal et Hunter signalaient dès 1955 que la souche « Bellflower » de Metcalf et March, D.D.T. — résistante et sélectionnée à partir d'une souche prélevée sur le terrain en 1948 a perdu sa résistance en 4 ans au point de devenir aussi sensible que la souche témoin de Naidm.

Nous avons par ailleurs étudié la perte progressive de résistance dans la souche R (I.N.A.) par isolement de lignées, dénommées P, que nous avons élevées à l'écart de tout contact insecticide, comme les souches sensibles S (I.N.A.).

Une première souche P fut isolée à la 87e génération de R (I.N.A.) la seconde à la 139e, nous les désignons respectivement par les symboles P (R 87) et P (R 139), complètant par un indice indiquant le nombre de générations de P élevées en l'absence de lindane : P^{60} (R 87). P (R 87) est devenue de sensibilité normale en 60 générations environ (fig. 35 A). Dans une note préliminaire (P. Pesson et F. Ramade, 1964), nous observions déja qu'à une concentration de lindane de 0,2 µg/cm², les droites ld-p étaient très rapprochées entre P 54 (R 87) et S (I.N.A.). Les DL 50 ont subi une forte diminution. Nous avons obtenu pour P 54 (R 87) une valeur de 0,08 µg/♀ et pour P 68 (R 87) 0,04 µg/♀ chiffre tout à fait comparable à la DL 50 de la souche sensible S (I.N.A.).

Le retour de P (R 139) à l'état sensible se montre beaucoup plus lent car cette dernière a subi l'influence du contact avec des doses subléthales de lindane pendant 3 ans et demi et 52 générations

(1) La souche S (I.N.A.) a été isolée de la même population rurale que la souche R (I.N.A.) (population résistante de « Clos-Fontaine » par suppression du contact avec le lindane dès le début de son élevage au laboratoire en 1952.

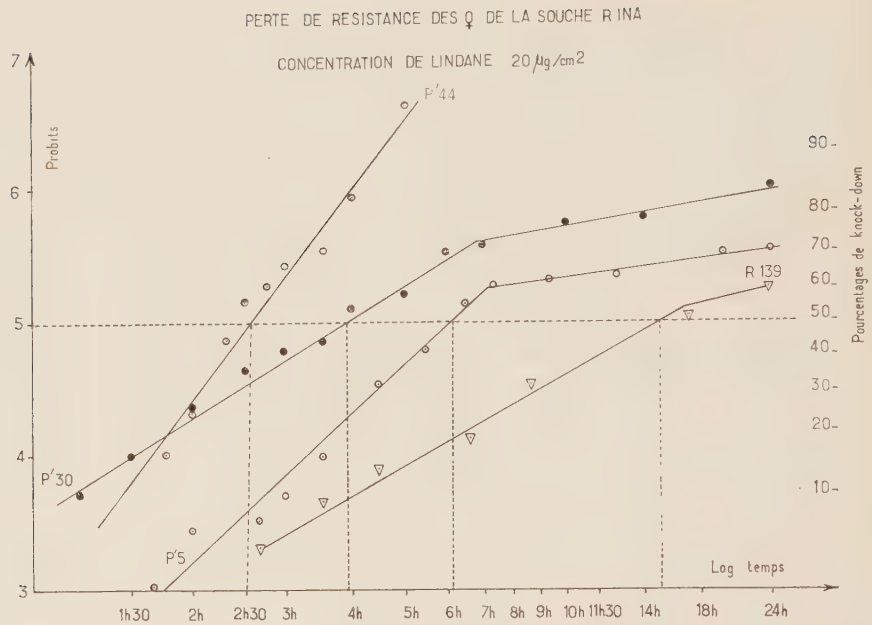


FIG. 35. — Perte de la résistance au lindane dans la souche R (I.N.A.) chez les individus élevés sans contact insecticide. On observe une augmentation progressive de la pente des droites *lt-p* et une diminution du TL 50.

de plus que P (R 87) et semble de ce fait plus adaptée. Il faut noter que la sensibilité au knock-down s'accroît beaucoup plus vite que la DL 50 ne diminue dans les premières générations élevées sans contact insecticide. Cette diminution plus rapide de la résistance au knock-down se traduit par une régression plus forte des TL 50 par rapport aux DL 50 dans les 30 premières générations de P (R 139) (fig. 35 et 36).

A la concentration de 20 µg /cm², nous avons relevé les données suivantes :

SOUCHE	TL 50 DES ♀	% DE KD (après 24 h)
R 139	14 h	60
P 5 (R 139)	6 h 10	70
P 30 (R 139)	3 h 50	84
P 45 (R 139)	2 h 07	100

La diminution de la DL 50 pour les générations successives de P (R 139) est beaucoup moins accusée; la fig. 37 montre qu'après une chute relativement importante pendant les trois premières

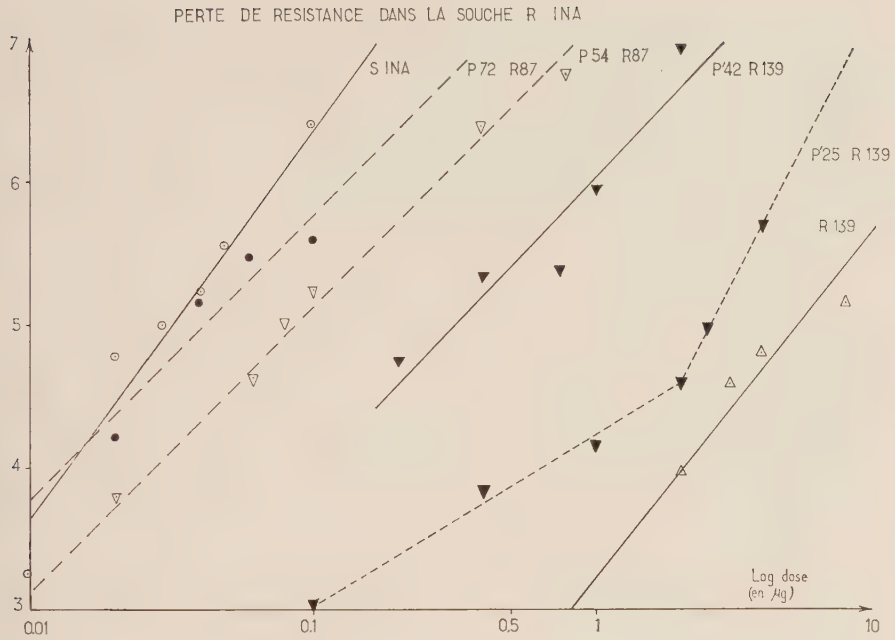


Fig. 36. — Perte de la résistance au lindane dans la souche R (I.N.A.) chez les individus élevés sans contact insecticide : la DL 50 pour P 72 (R 87) est sensiblement la même que celle de S (I.N.A.). Remarquer aussi pour une autre expérience la présence d'inflexion dans les courbes des générations intermédiaires P 25 (R 139) et la plus grande dispersion des points dans P 42 (R 139) ce qui attesterait d'une hétérogénéité transitoire dans ces lignées.

générations, la DL 50 se stabilise ensuite pendant une dizaine de générations aux alentours de 3 µg/♀ puis régresse lentement à partir de la 16e génération pour ne s'accentuer à nouveau que vers la 32e. Le tableau XXXI résume les variations de la DL 50 des ♀ en fonction du nombre de générations élevées sans contact avec le lindane.

TABLEAU XXXI

Variation de la DL 50 des ♀ dans la souche P (R 139) en l'absence de contact avec le lindane

Génération	R 139	P^1 (R 139)	P^2 (R 139)	P^{10}	P^{16}	P^{32}	P^{41}
DL 50 en µg/♀ . .	5	4	3	3	2,75	1,75	0,3

L'examen des courbes *ld-p* (fig. 36) montre une certaine hétérogénéité pour P 25 (R 139) et P 42 (R 139) alors que les points expérimentaux sont alignés correctement pour R 139, P (R 87) et S (I.N.A.). Cette hétérogénéité correspond à la phase de sensibilisation (1) que l'on retrouve aussi dans certains cas dans le sens inverse, précédant alors l'apparition de la résistance (Derbeneva-

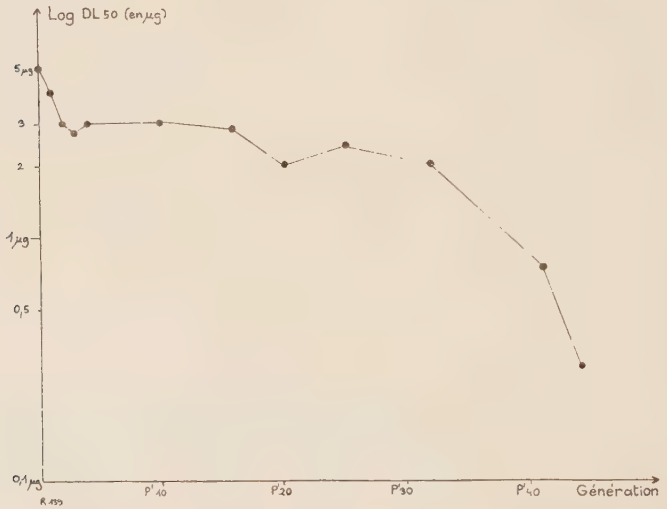


Fig. 37. — Réversion de la résistance dans la souche P (R 139) élevée en l'absence de lindane : diminution de la DL 50 de P 1 à P 44 chez les femelles.

Ukhova, 1962). Les généticiens attribuent cette variabilité dans la population à l'apparition de phénotypes hybrides.

En conclusion, la résistance de la souche R (I.N.A.) ne se présente pas comme un caractère stable bien qu'elle ait subit une sélection prolongée pendant 17 ans (au moins) et environ 200 générations en présence de lindane. La suppression du contact des adultes avec l'insecticide provoque une régression de cette résistance. Celle-ci s'est avérée plus rapide pour une lignée séparée du lindane à la 87e

(1) On constate en effet dans certains cas que les courbes *ld-p* publiées par certains auteurs ne sont pas rectilignes mais présentent des inflexions plus ou moins accusées pendant les premières générations élevées au contact de l'insecticide. On interprète généralement ce phénomène comme un indice de l'apparition de phénotypes hybrides dans la population.

génération que pour celle qui le fut à la 139e. La résistance au lindane ne peut donc se maintenir sans contact avec l'insecticide et le retour à la sensibilisation normale est alors un phénomène inéluctable.

Une explication commode de la lenteur plus grande avec laquelle P (R 139) perd sa résistance, peut faire appel à l'hypothèse que cette population de R (139) serait d'une homozygotie supérieure à R (87) quant au caractère résistance puisque sélectionnée pendant 50 générations de plus. Mais l'interprétation exacte de ce phénomène de perte de la résistance demeure en réalité assez obscure. La plupart des auteurs l'attribuent à une vitalité supérieure des individus hétérozygotes sensibles subsistant dans la population et surtout à leur plus grande fécondité. Dans ces conditions, ces individus plus prolifiques, élimineraient progressivement les homozygotes résistants, en l'absence du facteur discriminant que représente le contact avec le toxique.

5e. — *Comparaison du potentiel biotique des souches R (I.N.A.), S (I.N.A.) et O.M.S. élevées en l'absence de contact avec le lindane.*

Afin de déterminer dans quelles mesures la perte de résistance dans la souche R (I.N.A.) pouvait s'expliquer par un moindre potentiel biotique des mouches résistantes élevées en l'absence d'insecticide, nous avons comparé la production moyenne d'adultes par femelle dans plusieurs lots de mouches R et S (I.N.A.).

Nous avons déjà défini dans la première partie de cette étude, à propos de l'action du lindane sur l'ovogénèse, les termes de fécondité, de fertilité et de productivité, et décrit les techniques d'élevage utilisées pour estimer ce potentiel biotique. Dans chaque lot expérimental, nous avons placé 20 à 30 femelles et 40 à 75 mâles dans des cages particulières en l'absence de lindane. Nous avons déterminé la production totale d'adultes et la moyenne par femelle en tenant compte du nombre initial de femelles placées dans chaque lot, même si certaines périrent avant de pondre. Le tableau XXXII réunit ces divers résultats. De plus nous avons estimé à la 183e génération des souches R et S (I.N.A.) la production totale d'œufs, de pupes et d'adultes, afin d'effectuer une comparaison plus complète du potentiel biotique de ces diverses souches. L'examen de ces diverses

données expérimentales révèle en premier lieu une variabilité considérable de la productivité. Si l'on fait exception des lots IV et VI, qui rendent l'échantillon moins homogène, on remarque encore des variations du simple au double dans la production moyenne d'adultes par femelle.

TABLEAU XXXII

COMPARAISON DE LA PRODUCTION MOYENNE D'ADULTE PAR LES FEMELLES DES SOUCHES R (I.N.A.), S (I.N.A.) et O.M.S. EN L'ABSENCE DE LINDANE

N° DU LOT	R (I.N.A.)			S (I.N.A.)			O.M.S.		
	Nbre de ♀	Nbre adult.	Moy. par ♀	Nbre de ♀	Nbre adult.	Moy. par ♀	Nbre de ♀	Nbre adult.	Moy. par ♀
I	30	3 320	116	30	4 207	140	25	1 378	55
II	30	5 342	178	30	6 909	230	25	2 401	98
III	30	2 586	220	30	4 450	148			
IV (*)	25	2 286	91	25	2 175	87			
V				40	9 049	203			
VI (*)	20	2 436	122	20	2 230	110			
VII	20	5 815	290	20	3 330	165	20	2 214	111

(*) Les femelles des lots IV et VI étaient issues de pupes ayant un poids moyen de 16 milligrammes contre 24 milligrammes pour les autres lots. Les femelles de poids plus faible pondent moins.

Par ailleurs, le cumul des données numériques conduit à attribuer une productivité moyenne de 160 adultes par femelle pour R (I.N.A.) contre 165 pour S (I.N.A.). Nous avons testé l'homogénéité des résultats pour vérifier s'il existait une différence significative dans le potentiel reproductif des souches S et R (I.N.A.). Le calcul est superflu dans le cas de O.M.S. Les résultats numériques révélant indiscutablement une productivité beaucoup plus faible que pour les autres souches. Nous avons utilisé le critère de la variable t de Student, en éliminant le lot V pour lequel nous ne disposons pas d'un couple de valeurs, Cette variable a pour expression mathématiques :

$$t_{\nu} = \frac{\sqrt{\sum n_i D}}{\sqrt{\frac{\sum n_i (D_i - \overline{D})^2}{\nu}}}$$

où ν a pour valeur le nombre de degrés de liberté, lequel est égal au nombre de couples de valeurs expérimentales moins un (dans ce cas, $\nu = 6 - 1 = 5$ DL).

$$D = \frac{\sum_i n_i D_i}{\sum_i n_i} \text{ et } D_i = \mu_{i1} - \mu_{i2}$$

avec pour valeur de μ_i la moyenne obtenue pour chaque valeur du couple, ici productivité par femelle.
Nous trouvons pour D_i les valeurs suivantes :
D_i I = 24, D_i II = 52, D_i III = 72, D_i IV = 4, D_i VI = 12, D_i VII = 125 d'où

$$t_5 = \frac{218{,}37}{72\,000} = 0{,}81$$

Or la valeur limite de t est de 2,57 pour 5 DL. On peut donc conclure que cette valeur n'étant pas atteinte il n'y a pas de différence significative dans la production des adultes des femelles R (I.N.A.) et S (I.N.A.) en l'absence de lindane.

Il semble toutefois que la fertilité des mouches R (I.N.A.) serait supérieure à celle des mouches sensibles. Si l'on examine les données du tableau XXXIII on constate que 61 p. 100 des œufs ont produit des adultes dans la souche R (I.N.A.) 183 contre 45,8 p. 100 dans S (I.N.A.) dont elle est issue. En outre la variance des données numériques obtenues est trop forte pour affirmer que la productivité des femelles R (I.N.A.) est supérieure, malgré la forte différence observée entre ces deux souches à la 183e génération. A l'opposé, la souche O.M.S. présente une fécondité, une viabilité des stades préimaginaux et une productivité nettement moindre que celle de la souche S (I.N.A.). Celle-ci ne produit guère qu'une centaine d'adultes par femelle contre 200 environ dans nos souches. Milani (1965) attribue cette atténuation du potentiel biotique de cette souche à une mauvaise adaptation aux milieux nutritifs gélosés à base de lait en poudre. Cela est confirmé par nos résultats, mais il apparaît en outre que ces mouches possèdent une fécondité plus faible.

Les seules publications antérieures sur le potentiel biotique comparé de souches résistantes et sensibles aux insecticides sont celles de Hunter, Cutkomp et Kolkaila (1958, 1959). Selon ces auteurs, la production moyenne d'adultes par femelle serait nettement

TABLEAU XXIII

Potentiel reproductif des souches R (I.N.A.), S (I.N.A.) et O.M.S. en l'absence de lindane a la 183e génération

Souche	Fécondité (nombre d'œufs par ♀)	Fertilité (Rapport du nombre d'adultes au nombre d'œufs)	Production de		Productivité (Nombre d'adultes par ♀)
			pupes par ♀	Nombre de pupes pour 100 œufs	
R (I.N.A.)	474	61	319	67,3	290
S (I.N.A.)	361	45,0	177	48,6	165
O.M.S.	331	33,4	164	49,6	111

inférieure dans les souches résistantes, résultats opposés à nos propres conclusions. Ils ont étudié dans une première publication (1958) la fécondité et la fertilité de la souche sensible « Orlando », hautement résistante au D.D.T. (DL 50, 235 µg/♀). Leur seconde publication se rapporte à la comparaison du potentiel biotique de deux souches résistantes au D.D.T. mais présentant une résistance croisée pour d'autres insecticides dont le dieldrin. Il s'agit de la souche « Roberds » (résistante au D.D.T. et au dieldrin, élevée pendant 196 générations en laboratoire - DL 50 pour le D.D.T. : 130 µg/♀) et de la souche D.D.T. — 45 (résistante aux carbamates et aux esters phosphoriques et tolérante au dieldrin — DL 50 pour le D.D.T. 160 µg/♀), élevée pendant 218 générations au laboratoire . Il faut remarquer que ces souches ont donc été élevées en « inbreeding » constant pendant une durée comparable à celle de notre souche R (I.N.A.). Les résultats les plus importants obtenus par Hunter et ses coll. sont résumés dans le tableau ci-dessous (XXXIV).

A notre avis, l'estimation du nombre de descendants adultes engendrés par une femelle pendant toute sa vie (moyenne tenant compte des femelles stériles) est assez approximative. Les chiffres donnés par Hunter et ses coll. résultent en effet d'une extrapolation par le calcul, en tenant compte de données partielles. Seuls les œufs furent comptés quotidiennement, et tous les trois jours, un lot de pontes fut placé dans un milieu d'élevage pour déterminer la fertilité et la productivité. Les résultats publiés par ces auteurs montrent

TABLEAU XXXIV

Potentiel biotique de souches de *Musca domestica* résistantes et sensibles au D.D.T. (selon Hunter et coll., 1958 et 1959)

Souche	Nombre d'adultes pour 100 œufs	Nombre total d'adultes par femelle
Sensible	70	329
Orlando	56,3	148
Résistante D.D.T. 45	72,3	67
Roberds	76,3	63

aussi une forte variation du potentiel biotique d'une souche résistante à l'autre. Il semble donc difficile de conclure, d'après ces données, que les souches résistantes présentent effectivement un plus faible potentiel biotique. A notre avis, les seules comparaisons valables sont celles que l'on peut réaliser sur des souches résistantes et sensibles issues d'une même population initiale et ayant donc des génotypes identiques à l'exception des caractères de résistance (dans la mesure où celle-ci résulte effectivement d'une sélection génique). Tel est le cas précisément de nos souches R et S (I.N.A.) puisque cette dernière provient d'une même population rurale de mouches résistantes, élevée en l'absence de lindane.

En conclusion, l'isolement de la souche R (I.N.A.) paraît s'être effectué en l'absence de facteurs sélectifs. la résistance au lindane de ces mouches ne semble pas résulter d'une sélection d'individus mutants préadaptés car aucun caractère propre tant au point de vue morphologique que physiologique ne singularise ces insectes des individus normaux sensibles, si ce n'est leur aptitude à supporter de plus fortes doses de lindane. De plus l'accroissement de résistance dans cette souche s'est effectué sans élimination apparente de certains géniteurs ainsi qu'en attestent les résultats des études de longévité. Enfin la perte de résistance de R (I.N.A.) en l'absence de lindane ne peut s'expliquer en se basant sur l'hypothèse d'une plus grande fécondité des individus sensibles; par contre une diminution générale de la résistance dans toute la population, par disparition de l'effet d'accoutumance, semble fournir une explication plus vraisemblable

du retour à l'état sensible chez les mouches de cette souche élevées à l'écart de tout contact insecticide. Nous avons donc cherché à démontrer l'existence de tels faits d'accoutumance physiologique chez des insectes élevés en présence de lindane.

B. — Présence de faits d'accoutumance physiologique dans la souche R (I.N.A.).

Dans le but de vérifier si quelque facteur non génétique intervient dans les différences de résistance au lindane, nous avons comparé d'une part la résistance de mouches de même souche et de même génération selon qu'elles ont été en contact ou non de doses subléthales de lindane, d'autre part, le niveau de résistance des individus issus d'un même groupe de géniteurs, mais dont les pontes ont été recueillies avant puis après le contact des géniteurs femelles avec l'insecticide. Il s'est révélé qu'effectivement, une dose subléthale de lindane renforçait la résistance soit de l'imago, soit de sa descendance. La modification du taux de résistance observé dans de telles expériences ne peut être attribuée à des différences génétiques.

1°. — *Accoutumance de R (.IN.A.) au lindane sous l'influence d'une exposition des adultes à des doses subléthales.*

Pour démontrer l'existence d'un tel mécanisme adaptatif au contact insecticide, nous avons adopté le protocole expérimental suivant : des mouches de la souche R (I.N.A.), issues d'un même groupe de pontes sont réparties en deux lots : l'un est placé dans une cage aux parois badigeonnées de lindane aux concentrations usuelles que nous employons pour maintenir cette souche, et l'autre est élevé en l'absence d'insecticide. La mortalité est relevée quotidiennement dans les deux groupes expérimentaux ce qui permet de constater qu'elle est identique dans les deux cas (les concentrations utilisées sont réellement non léthales ou subléthales, et ne provoquent de ce fait aucune mortalité par intoxication). Quand les insectes sont âgés d'une semaine, nous testons le niveau de résistance des deux lots en établissant les droites de régression *ld-p* et *lt-p*.

Le tableau XXXV rend compte des pourcentages de knock-down en fonction du temps relevé dans deux expériences effectuées sur des adultes de la 90e et de la 180e génération de la souche R (I.N.A.).

A la 90e génération; nous avons mis les mouches en présence d'une concentration de 10 µg /cm², le prélèvement effectué au hasard

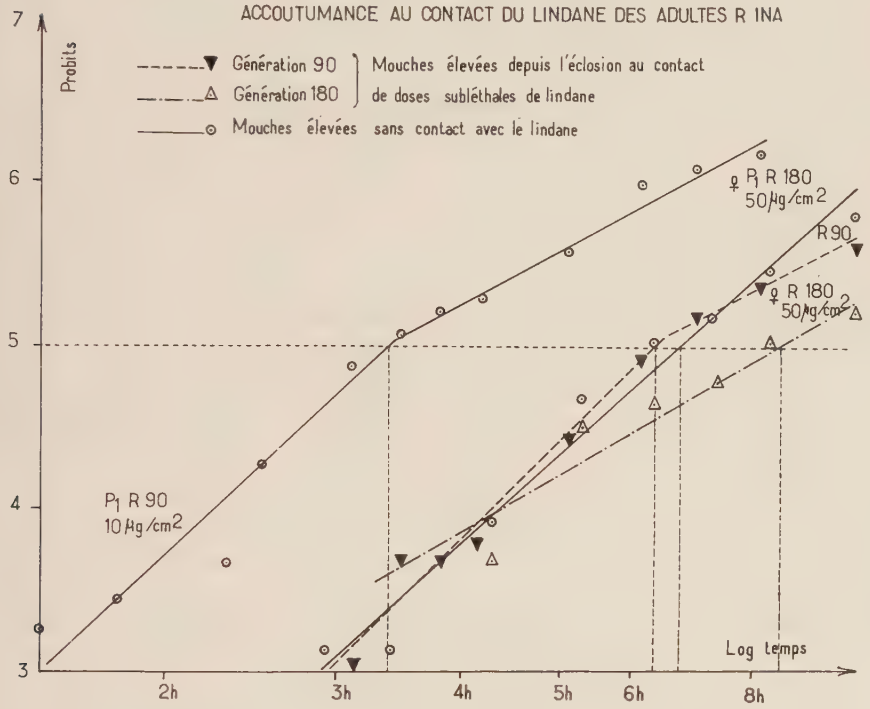


Fig. 38. — Accoutumance au contact du lindane dans la souche R (I.N.A.). Les TL 50 d'adultes résistants élevés dès l'éclosion en présence de concentrations subléthales d'insecticide sont nettement supérieures à ceux d'adultes issus du même lot de pupes, mais élevés dans contact insecticide.

dans les cages d'élevage comportait les deux sexes en mélange. A la 180e génération, le test a été exécuté uniquement sur des femelles à la dose de 50 µg /cm². La figure 38 représente les droites *lt-p* obtenues. Trois autres expériences de ce type ont donné des résultats tout à fait conformes à ceux que nous exposons ici. Les TL 50 font apparaître des divergences considérables entre les groupes de mou-

ches de souche résistante (R 90 et R 180) élevés depuis l'éclosion au contact ou en l'absence de lindane, de même les mortalités observées après 24 heures présentent des différences importantes.

TABLEAU XXXV

Comparaison de la sensibilité au lindane de deux groupes de mouches domestiques ayant les mêmes parents mais conservés les unes au contact, les autres en l'absence d'insecticide, depuis leur éclosion. Les tests ont été effectués par contact tarsal, les pourcentages expriment le knock-down en fonction du temps. On a testé les mâles et les femelles a la génération 90 les femelles seules pour la 180e génération.

R 90, ♂ et ♀ agés de 8 j (10 µg /cm²)			R 180 ♀ agées de 8 j (50 µg /cm²)		
Temps	% de knock-down		Temps	% de knock-down	
en min.	contact	pas de lind.		contact	pas de lind.
90		4	200		3
110		6	260	9	14
130		9	320	31	37
150		23	380	36	51
170	1	35	440	41	64
190	2	45	500	52	68
210	9	53	620	58	78
230	9	58	740	61	78
250	11	61	860	68	77
270	28	72	980	70	80
310	46	84			
370	56	86			
430	64	88			
490	72	88			
après 24 h	83	91	après 24 h	73	80

TABLEAU XXXVI

Accoutumance au contact du lindane dans la souche R (I.N.A.) : comparaison des TL 50 et des mortalités après 24 h dans les lots d'insectes agés de 8 jours élevés ou non en cages traitées par cet insecticide.

Génération	Lot de mouches élevé au contact du lindane (R)		lot élevé en l'absence de lindane (P1)	
	TL 50	Mortalité 24 h	TL 50	Mortalité 24 h
90 (♂ + ♀) . .	6 h 10	83 %	3 h 25	91 %
180 (♀).	8 h 30	73 %	6 h 22	80 %

Nous pouvons donc conclure de ces expériences que les mouches résistantes, élevées dès l'éclosion en contact permanent avec le lindane, présentent, après un délai de 8 jours, une résistance nettement supérieure à celle de mouches de même génération, isolées du contact insecticide dès leur éclosion. De plus, la mortalité après 24 heures est plus forte dans ce dernier cas. La détermination des droites *ld-p* et le calcul des DL 50 confirment ces résultats. Nous avons constaté à plusieurs reprises une différence significative de DL 50 entre deux lots de femelles issues d'un même groupe de pupes, mais ayant subi ou non ce contact insecticide à des doses subléthales après leur éclosion. Dans cinq séries d'expériences de ce type effectuées sur des mouches dont l'âge variait de 36 heures à 15 jours, nous avons toujours trouvé une TL 50 et une DL 50 supérieure pour les insectes élevés au contact de traces de lindane. Dans deux d'entre elles, les écarts observés étaient à la limite des intervalles de confiance pour 95 p. 100 de sécurité, dans les trois autres, ils étaient nettement significatifs. Le tableau XXXVII fait état des données obtenues par un test « mortalité-dose » sur des mouches de la 173e génération. La figure 39 représente les droites *ld-p* correspondantes.

Nous avons calculé d'après des données les équations des droites de régression qui ont pour expression dans le cas des individus élevés au contact insecticide :

$$Y = 4{,}712 + 2{,}4317\ (X - 0{,}5574)\ (\chi^2 = 3 \text{ avec } 2 \text{ D.L})$$

et dans celui des mouches élevées sans contact insecticide :

$$Y = 4{,}8626 + 2{,}7626\ (X - 0{,}5156)\ (\chi^2 = 2 \text{ avec } 2 \text{ D.L})$$

Ceci donne une DL 50 de 0,6758 U.L pour les mouches élevées dès l'éclosion imaginale au contact du lindane (soit 4,74 µg/♀) et une DL 50 de 0,5653 U.L. pour celles élevées hors de tout contact insecticide, soit 3,67 µg/♀. Le calcul des intervalles de confiance pour une sécurité de 95 p. 100 a permis de fixer leur valeur à 0,6758 ± 0,0365 U.L. pour les mouches R, élevées au contact du lindane et à 0,5653 + 0,0221 U.L. pour P1 (R 173) isolées de tout contact insecticide. Dans ces conditions, la limite supérieure de l'intervalle de confiance est de 3,86 µg/♀ pour la DL 50 des P^1 et la limite inférieure de celui

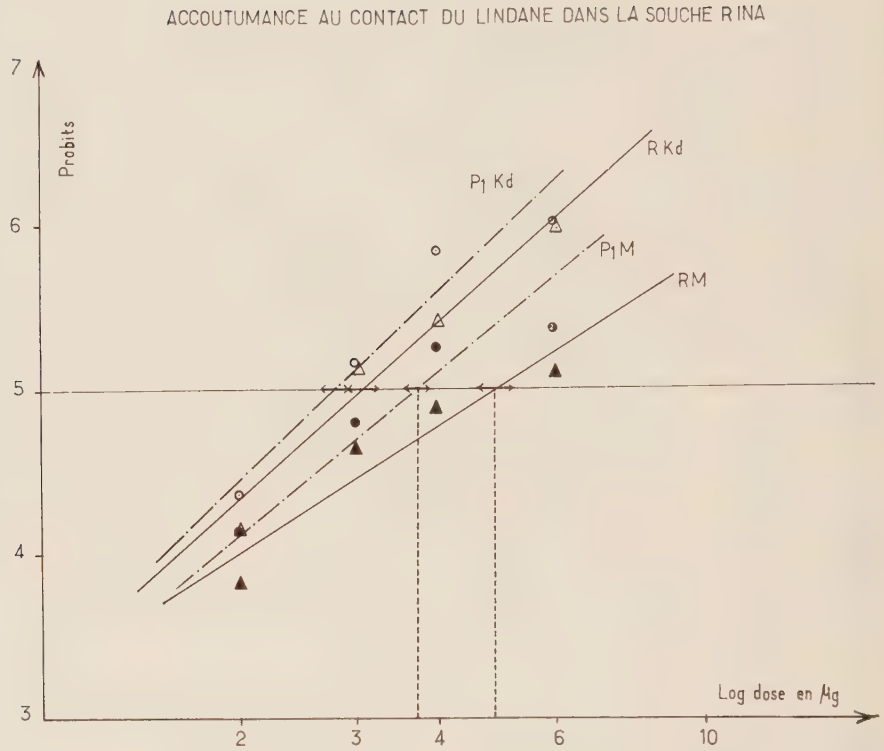


Fig. 39. — Accoutumance au contact du lindane chez les mouches de la souche R (I.N.A.). Comparaison des droites de régression pour le knock-down et la mortalité après 24 heures en fonction de la dose. Le lot élevé sans contact insecticide est représenté par les cercles et les traits interrompus et celui dont les adultes ont été mis en contact de doses subléthales de lindane dès leur éclosion par des triangles et des traits pleins. Les flèches horizontales indiquent les limites des intervalles de confiance. Il y a une différence significative de mortalité après 24 heures entre les lignées P 1 et R.

des R de 4,35 µg/♀. La différence observée est donc nettement significative.

Cette résistance accrue des mouches élevées pendant quelques jours au contact du lindane, avant d'être soumises au test, par rapport à des mouches témoin de même âge et de même lignée, mais privées de traitement préalable au lindane, ne peut évidemment être rapportée à des différences d'ordre génétique. Nous avons en effet vérifié à plusieurs reprises (cf. plus haut) que les concentrations d'insecticide déposées sur les parois des cages d'élevage sont tota-

TABLEAU XXXVII

Accoutumance au contact du lindane dans la souche R (I.N.A.)
Résultats de tests mortalité-dose, souche R 173, mouches agées de 4 jours

Souche	Action après 24 h	Doses			
		2 µg	3 µg	4 µg	6 µg
R 173 contact avec le lindane dès l'éclosion imaginale	% de knock-down . . .	20	55	66	84
	% de mortalité	12	36	45	54
P^1 (R 173) élevée sans contact insecticide	% de knock-down . . .	26	56	80	83
	% de mortalité	20	42	60	64

lement inoffensives pour les mouches de la souche R (I.N.A.). Il ne peut donc y avoir sélection par élimination d'individus plus sensibles entre l'éclosion et le moment du test.

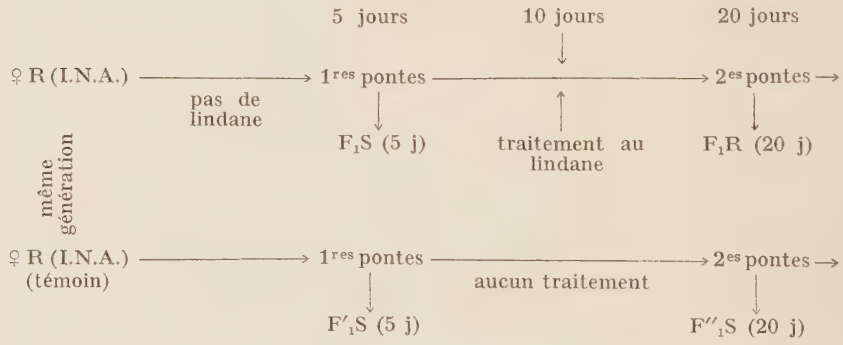
La seule explication que l'on puisse donner de ce phénomène est que le contact avec des doses subléthales de toxique renforce les mécanismes de résistance qui interviennent lors d'un test ultérieur avec des doses léthales. Cela peut se traduire par un effet d'accoutumance physiologique (ou de mithridatisation). C'est la preuve que les phénomènes de résistance aux insecticides peuvent comporter au moins une part de processus adaptatifs physiologiques.

2e. — *Effet d'un traitement à des doses subléthales sur le niveau de résistance de la descendance.*

Nous avons voulu voir dans quelle mesure les modifications du niveau de résistance que nous avons mises en évidence chez des mouches adultes de la souche R, sous l'influence de doses subléthales de lindane, étaient transmissibles à la descendance. En effet, nous avions constaté à plusieurs reprises dans des tests préliminaires que la descendance de pontes déposées par des ♀ jeunes (âgées de 5 à 6 jours) étaient moins résistantes que celle des mêmes ♀ âgées (20 jours ou plus), ces femelles appartenant à la souche R (I.N.A.) et étant élevées en cages badigeonnées avec du lindane.

Nous avons adopté le protocole expérimental suivant : des femelles de la souche R (I.N.A.) étant élevées dès leur éclosion en l'absence de lindane, on prélève leurs ponte quand elles ont atteint l'âge de 5 jours. Un peu plus tard, à l'âge de 10 jours, ces mêmes mouches furent traitées à une dose de 0,75 µg de lindane qui ne provoqua aucune mortalité significative (1,76 p. 100). Puis à l'âge de 20 jours, c'est-à-dire 10 jours après ce traitement, leurs pontes furent de nouveau prélevées. Les descendants F_1 de ces deux lots de pontes, déposées par la même population de mouches adultes, ont alors été testés par la technique des microgouttes afin d'établir les droites *ld-p*. Un lot témoin de la même génération de R (I.N.A.) fut élevé en l'absence constante de lindane et l'on préleva les pontes aux mêmes dates.

Nous avons donc le schéma expérimental suivant :



Le tableau XXXVIII et la fig. 40 montrent que les femelles F_1 R issues de mouches âgées de 20 jours et traitées à l'âge de 20 jours possèdent une DL 50 nettement supérieure à celle des femelles (F_1 S) écloses de pontes déposées par les mêmes parents, antérieurement au traitement, à l'âge de 5 jours. Par contre, la DL 50 du témoin est plus faible pour les femelles (F'_1 S) issues de pontes de femelles âgées de 20 jours que pour celles de femelles (F' S) issues de pontes déposées par les mêmes géniteurs à l'âge de 5 jours.

Ces tests montrent (fig. 40) que les DL 50 d'adultes issus de femelles âgées de 5 jours ne sont pas significativement différentes entre F_1 S et le témoin F'_1 S, si l'on tient compte de la différence

TABLEAU XXXVIII

Résultats des tests « mortalité-dose » effectués sur des mouches adultes provenant de pontes déposées avant (F 1 S) et après (F 1 R) un traitement des parents a une dose subléthale de lindane. F'1 S et F'' 1 S correspondent au témoin non traité (tests des femelles seulement, mouches agées de 4 jours (R (I.N.A.) génération 183)

Age des parents	Lots testés	Pourcentage de mortalité en fonction de la dose					
		1 µg	2 µg	3 µg	4 µg	5 µg	10 µg
5 jours	F1S	16	37	60	68	80	
	F' 1S témoin		12,5	50	72	82	90
20 jours	F1R	0	8	32	54	78	
	F'' 1S témoin	12	66	80			

(*) Poids moyen des femelles ((F1 S 20,2 mg; (F'1 S) 27 mg; (F1 R) 22,7 mg; (F''1 S) 23 mg.

de poids moyen des femelles de chacun de ces lots. En revanche, la DL 50 des femelles (F_1 R) issues de pontes déposées 10 jours après le traitement des parents à des doses subléthales de lindane est significativement supérieure à celle d'individus issus de ponte antérieures au traitement. En effet, nous trouvons (F_1 R) une DL 50 de 0,6167 U.L. (avec $\sigma = \pm$ 0,0271 U.L.) soit 4,1 µg/♀ et pour (F_1 S) une DL 50 de 0, 4151 U.L. ($\sigma = \pm$ 0,0289 U.L.) soit 2,6 µg/♀. Ces différences sont nettement significatives. La DL 50 de F_1 R est également supérieure à celle du témoin (F''_1 S) provenant de pontes de femelles non traitées âgées de 20 jours. Par contre, la DL 50 de la descendance du témoin est plus faible pour les individus issus de pontes effectuées à l'âge de 20 jours que pour ceux issus de pontes déposées à l'âge de 5 jours. Dans le témoin, les femelles âgées donnent une descendance plus sensible au lindane que les femelles jeunes, fait que nous avions déjà signalé.

Les DL 50 des femelles ont les valeurs suivantes pour les différents lots expérimenaux.

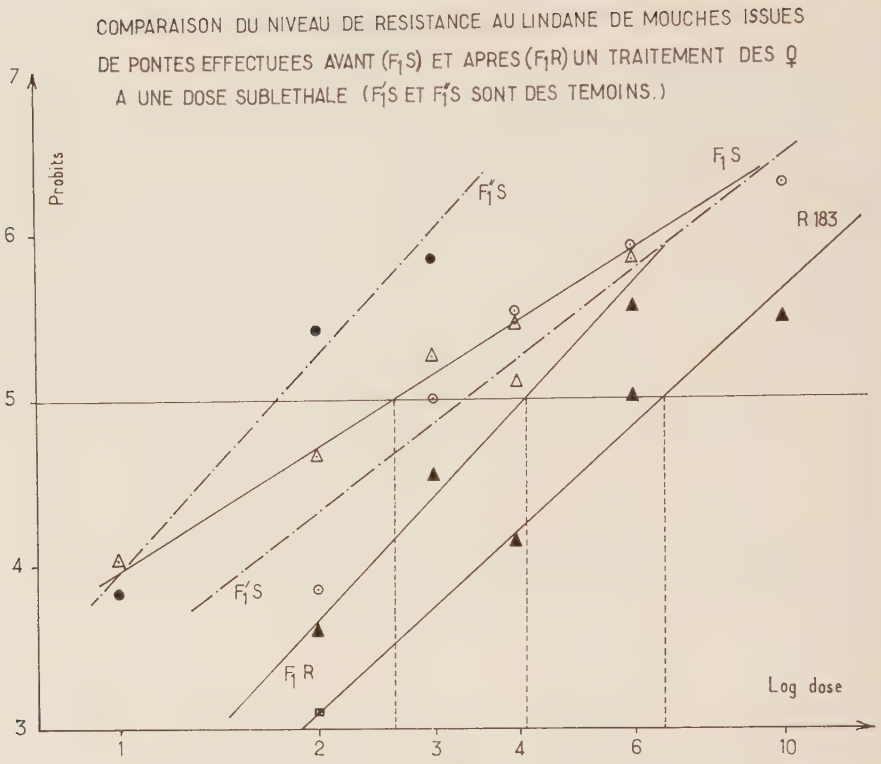


FIG. 40. — Comparaison du niveau de résistance au lindane de mouches issues de pontes déposées avant (F1S) et après (F1R) un traitement des géniteurs à des doses subléthales de cet insecticide. F'1S et F''1S correspondent aux adultes issus de pontes du témoin prélevées au même âge que celles ayant donné F1S et F1R respectivement. On constate que les mouches provenant de pontes déposées après le traitement à des doses subléthales de lindane (F1R) sont nettement plus résistantes que celles issues de pontes déposées avant le contact insecticide (F1S). Les droites *ld-p* correspondent à des tests réalisés sur des femelles âgées de 4 jours.

LOT	(F1S)	(F' 1S) témoin	(F1R)	(F'' 1S) témoin
DL 50 /♀ (en µg) . . .	2,6	3,3	4,1	1,7
DL 50 (en µg /g) . . .	129	126	180,7	73

La DL 50 des femelles (F_1 R) est donc supérieure de 50 p. 100 à celle des femelles (F_1 S) en tenant compte de la correction de poids. Seul un effet d'accoutumance peut donner une explication vraisem-

blable de cet écart, qui ne peut être attribué à une sélection due au traitement insecticide, car on n'a observé, rappelons-le, que 1,9 p. 100 de mortalité sur une population globale de 57 femelles. En outre, on ne peut invoquer l'élimination de certains géniteurs car nous avons vu plus haut que d'aussi faibles doses ont plutôt un effet légèrement stimulant sur la fécondité.

Beard (1965) a réalisé une expérience similaire à la nôtre en exposant des œufs de *Musca domestica* à des traces de D.D.T. assez faibles pour ne point intoxiquer ces derniers. Il a nourri dans ce but des mouches de la souche O.M.S. avec du lait en poudre auquel on avait incorporé des traces de D.D.T. marqué. Dans ces conditions, aucune mortalité anormale, attribuable au traitement, ne fut relevée dans les femelles et les œufs qu'elles pondaient, bien qu'ils renferment des traces de D.D.T., puisqu'ils étaient légèrement radioactifs. Ces œufs ne présentaient aucune diminution du taux d'éclosion, ce qui montre que ces doses étaient suffisamment faibles pour ne provoquer aucune sélection.

Dans quatre échantillons sur cinq, Beard observa que la descendance du lot de femelles nourries au D.D.T. s'est montré de résistance significativement supérieure au lot non traité (la DL 50 étant environ 10 fois supérieure à celle du témoin) cette expérience confirme ce que nous avions déjà avancé (P. Pesson et F. Ramade, 1964) à savoir que des doses subléthales peuvent faire apparaître une résistance dans des souches sensibles. Beard a comparé, de façon identique à celle que nous venons de présenter, les effets sur la descendance de faibles doses de D.D.T. administrées à la mère par voie alimentaire, de façon à pouvoir séparer sa ponte en deux lots : avant et après traitement. Cependant les fluctations qu'il a observées d'un échantillon à l'autre ne lui ont pas permis de conclure catégoriquement. Par ailleurs Beard considère, tout en faisant des réserves, que ces augmentations de résistance pourraient s'expliquer par une sélection au niveau ovarien. Il constate en effet que ces doses subléthales induisent une réduction de l'ovogénèse chez les femelles ainsi traitées qui produisent nettement moins d'œufs que le témoin. Il conclut que la pression sélective du D.D.T. agit dans ce cas non point en éliminant les individus les plus sensibles, mais en réduisant leur taux de reproduction.

Mais rien ne prouve que ce sont les femelles les plus sensibles qui pondraient le moins à la suite du traitement. Beard constate lui-même que des mouches appartenant à une souche hautement résistante au D.D.T. présentent aussi une réduction de fécondité quand elles sont alimentées avec du lait additionné de D.D.T. Notons aussi que Lineva (1960, 1962) et Derbeneva-ukhova (1962) observent une relation directe entre le taux des anomalies ovariennes et l'apparition de la résistance au D.D.T. et au Chlorophos chez des souches de *Musca domestica* provenant de diverses régions de l'U.R.S.S.

Nous ne pensons pas qu'il y ait une correlation entre une stérilisation de certains individus par le traitement insecticide, ou la dégénérescence de certains follicules ovariens chez ces insectes intoxiqués, et l'apparition de la résistance. Nous avons montré que la stérilisation aux fortes doses ne résulte point d'une action directe sur l'ovaire mais d'une perturbation des mécanismes neurohumoraux de la vitellogénèse. Ceci permet d'exclure l'hypothèse d'une sélection des œufs *in situ* dans les ovaires. En outre, l'étude de l'influence du lindane sur la fécondité des souches nous a révélé que les faibles doses provoquent un accroissement de fécondité, or nous observons quand même un accroissement de résistance chez les insectes ayant reçu de faibles doses. Dans ce cas au moins, tout effet sélectif au niveau de l'ovaire semble exclu.

Nos expériences suggèrent donc que la résistance résulte au moins partiellement d'un effet d'adaptation de nature physiologique.

3e. — *Essai de modification du niveau de résistance d'une souche sensible par injection de broyats d'œufs d'une souche résistante.*

Nous nous sommes efforcés de montrer à l'aide de divers tests exposés dans les pages précédentes que la résistance aux insecticides ne résulte pas seulement d'une sélection génétique mais comporte aussi des mécanismes d'accoutumance physiologique. En fait, nos expériences prouvent qu'interviennent des facteurs dont l'action semble propre au soma, et n'est pas influencé par le génotype. Dans le but de trancher de façon indiscutable le rôle respectif du soma et du germen dans l'évolution de populations résistantes de *Musca*

domestica, nous avons envisagé d'effectuer des transplantations d'ovaire entre mouches sensibles et mouches résistantes. En effet, s'il existe une influence somatique du milieu intérieur par l'intermédiaire de l'hémolymphe sur le cytoplasme de l'ovocyte, la descendance des ovaires implantés devrait être plus résistante ou plus ou moins sensible selon la nature du porte-greffe. Si au contraire, seul le génome intervient dans la détermination du caractère de résistance, l'ovaire greffé conservera intégralement les caractères du sujet donneur comme l'ont montré Ephrussi et Beadle (1935) chez *Drosophila*.

Nous avons tenté d'effectuer des greffes sur des asticots de mouches domestiques en faisant appel à la technique mise au point par ces derniers auteurs. Cette manipulation paraissait *a priori* aisément réalisable car nous avions montré dans une publication antérieure (1962) que l'on pouvait distinguer macroscopiquement les sexes chez les asticots de mouche domestique, l'ovaire et le testicule présentant de légères différences de taille et de forme. Par ailleurs, l'utilisation d'un marqueur recessif devait permettre de reconnaître quels sont les individus issus de l'ovaire implanté. Il suffit pour cela de croiser les femelles résistantes ayant reçu un ovaire de femelle sensible, avec un mâle sensible de la même souche que celle ayant servi à prélever le greffon. Nous avons effectué cette manipulation avec une souche sensible mutante japonaise aux yeux verts (1). Les ovaires implantés ne se sont malheureusement jamais abouchés aux gonoductes de l'hôte. Cet échec provient de ce que chez la mouche domestique, les gonades s'abouchent très tôt avec les gonoductes, au début du 3e stade larvaire, contrairement à ce que l'on observe chez la Drosophile où ce phénomène a lieu au moment de la nymphose.

Une autre expérience nous a permis d'obtenir un résultat plus probant. Elle a consisté à injecter des broyats d'œufs de la souche résistante élevée au contact du lindane, à des asticots de la souche O.M.S. au 3e stade larvaire. Les pontes, prélevées dans les cages d'élevage de la souche R (I.N.A.) (badigeonnées de lindane) sont pesées, rincées à l'acétone pour éliminer les traces d'insecticide

(1) Il s'agit de la souche « Green » 2 que nous a aimablement communiquée le Pr Tsukamoto du Laboratoire de Génétique de l'Université de Nagasaki.

que les femelles auraient pu amener sur les pondoirs par contact tarsal, puis lavées à l'eau bi-distillée. Nous avons en effet constaté que les chorions sont pollués de lindane car en l'absence de lavage à l'acétone les larves injectées subissent une forte mortalité. Les œufs sont ensuite broyés dans du Ringer stérile (250 à 400 mg d'œufs

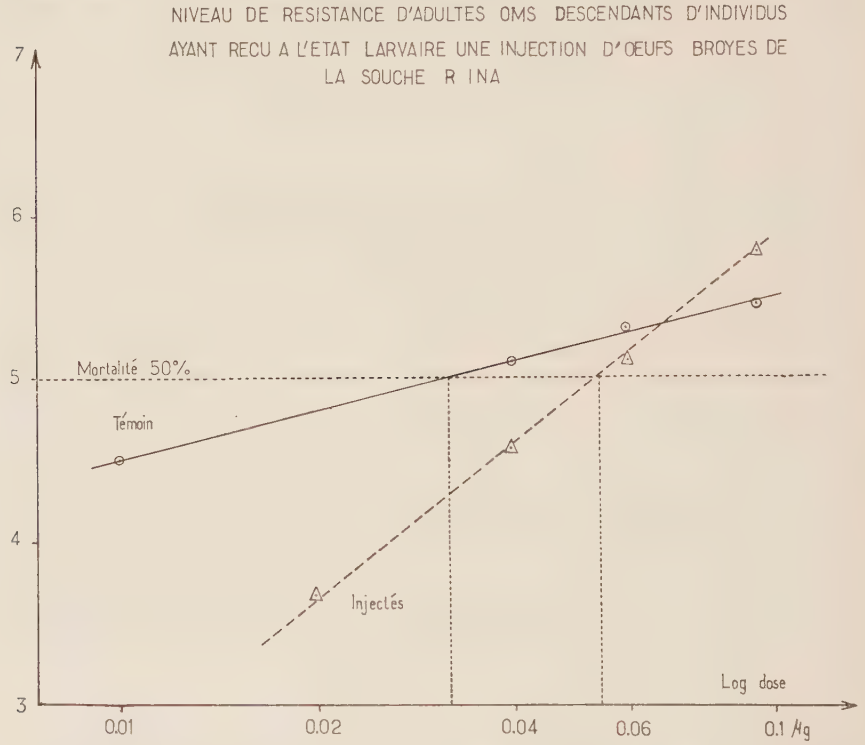


Fig. 41. — Comparaison du niveau de résistance de femelles O.M.S. provenant de parents injectés à l'état larvaire avec un broyat d'œufs résistants et d'un témoin Ce dernier semble plus sensible que les descendants des mouches injectées.

pour 2 cm³ de Ringer), à l'intérieur d'un tube de centrifugeuse. Les chorions vides se déposent au fond de ce dernier et on injecte la fraction surnageante à raison de 1 mm³ par asticot, à l'aide d'une micropipette à l'extrêmité biseautée. En plusieurs manipulations, nous avons injecté 900 asticots dont plus de 400 ont atteints l'état imaginal. En outre à chaque expérience nous avons injecté des asticots de la même souche avec un même volume de Ringer stérile, dont

les adultes servirent de témoin. Nous n'avons testé parmi la descendance obtenue de ces larves injectées, que les lots présentant un nombre suffisant d'individus pour permettre l'application d'au moins 3 doses croissantes, à raison de 25 à 50 femelles par doses. Le tableau réunit les données cumulées de cinq séries de tests.

TABLEAU XXXIX

Influence d'une injection de broyats d'œufs de mouches résistantes a des asticots de souche O.M.S., sur le niveau de sensibilité de leur descendance. Tests « mortalité-dose » au lindane

Dose en µg /♀	Femelles issues de parents injectés d'œufs R		Femelles issues de mouches témoin injectées au Ringer	
	Mortalité à 24 h	% de mortalité	Mortalité après 24 h	% de mortalité
0,01			38 /150	24
0,02	7 /75	9		
0,04	66 /195	33,8	33 /45	53,5
0,06	171 /325	52,6	144 /195	62,3
0,1	143 /183	78	23 /25	67

L'examen des droites *ld-p* obtenues à partir de ces chiffres (fig. 41) laisse apparaître une légère différence du niveau de résistance en faveur des individus provenant d'adultes ayant subi au stade larvaire une injection de broyat d'œufs de souche résistante. On trouve en effet une DL 50 de 0,032 µg /♀ pour le témoin O.M.S. non injecté, contre 0,0545 µg /♀ pour la descendance de larves injectées d'œufs R (I.N.A.) broyés. Cependant le calcul montre que ces différences sont à la limite des intervalles de confiance. Ces résultats ne sont donc pas entièrement concluants, car les données montrent une grande variabilité d'un lot expérimental. De plus la pente plus forte de la droite *ld-p* des descendants provenant des larves injectées, suggère un effet sélectif possible des injections, car la mortalité a été supérieure chez les asticots ayant reçu une injection de broyat d'œufs que chez les asticots témoins injectés avec du Ringer.

VI. — RÉSUMÉ ET DISCUSSION DES PRINCIPAUX RÉSULTATS

La première partie de ce mémoire, consacrée à l'étude de l'intoxication de la mouche domestique par divers insecticides de synthèse, nous a permis d'apporter plusieurs données originales sur le mode d'action de ces substances.

Nous avons analysé les symptômes qui caractérisent l'empoisonnement au lindane, au D.D.T., aux esters phosphoriques et au Sevin, et avons montré en faisant appel à une nouvelle technique d'enregistrement actographique, l'existence de remarquables particularités dans la symptomatologie comparée de ces insecticides.

Nos recherches sur les lésions histopathologiques du système nerveux central de la mouche domestique ont révélé que l'intoxication par le lindane provoque de nettes modifications dans les cellules neurosecrétrices de la *pars intercerebralis*. Celles-ci consistent essentiellement en un changement d'aspect des flaques de neurosécrétions, accompagné d'une augmentation de colorabilité à la fuschine paraldéhyde. En outre, nous observons, chez les individus soumis à une intoxication chronique une modification dans la proportion de divers types de ces cellules neurosécrétrices. Ces aspects histophysiologiques suggèrent un blocage des neurosécrétions de la *pars intercerebralis*, ce qui peut expliquer certains troubles physiologiques de l'ovogénèse, décrits par ailleurs.

L'examen en microscopie électronique de cerveaux prélevés sur des mouches domestiques intoxiquées au lindane nous a montré que certaines lésions ultrastructurales se manifestaient à des stades précoces de l'empoisonnement (fin de la phase choréo-ataxique). Celles-ci consistent surtout en une modification d'aspect des mitochondries (gonflement et dissociation des crêtes) et en une transformation des granules élémentaires de neurosécrétion lesquels diminuent en nombre et paraissent fusionner. Ces lésions peuvent être considérées comme des lésions primaires. Ultérieurement (« knock-down » et paralysie), d'autres lésions apparaissent : accroissement du nombre des corps multivésiculaires dérivés sans doute d'autres organites de nature lysosomiale, vésiculisation du Golgi, plissement de la

membrane nucléaire, disparition progressive des grains élémentaires de neurosécrétion dont le contenu se vide tandis que seule la partie corticale semble persister.

Nous avons d'autre part mis en évidence des lésions histœnzymologiques causées par certains insecticides. Le Parathion et le Fenthion provoquent *in vivo* une forte inhibition des acétylcholinestérases cérébrales chez *Musca domestica*, dès le stade choréc-ataxique; au contraire, le dipterex ne cause qu'une inhibition incomplète, même dans les cerveaux prélevés sur des mouches paralysées; le lindane n'a montré aucune action anticholinestérasique

Nous avons aussi montré que les insectes survivant à une application insecticide, peuvent présenter selon la dose reçue, soit un accroissement de leur fécondité, ou au contraire une diminution de l'activité ovarienne pouvant aller jusqu'à la stérilité. Les femelles survivant à l'application de doses faibles, provoquant au maximum 40 p. 100 de mortalité dans la population, ont une fécondité accrue et peuvent engendrer une descendance d'adultes supérieure de 50 p. 100 à celle de témoins. Cette observation entraine des conclusions d'importance pratique, concernant les effets de bordure ou les effets résiduels des traitements insecticides. Par contre, des applications de doses égales ou supérieures à la DL 50, provoquent chez les individus survivants des séquelles d'intoxication qui se traduisent par une diminution de la fécondité et du potentiel biotique lesquels deviennent inférieurs à ceux des témoins. Avec des doses plus fortes, il apparaît un nombre de plus en plus élevé de femelles stériles.

Les ovaires prélevés sur des femelles ayant survécu à de fortes doses présentent un retard ou une inhibition de la vitellogénèse ou prennent un aspect juvénile, par rapport aux ovaires normaux du même âge; d'autre part, de nombreuses pycnoses surviennent dans les ovaires de mouches ayant reçu des doses supérieures à la DL 50, ces atrésies atteignent surtout les follicules jeunes, au moment où va débuter le dépôt vitellin, mais aussi des ovocytes mûrs. Ces troubles de l'ovogénèse seraient la conséquence des modifications provoquées par le toxique au niveau des cellules neurosécrétrices du cerveau.

Nos recherches sur le mode d'action de ces divers insecticides

ont montré qu'il n'y avait aucune différence dans les symptômes ou les altérations histopathologiques et cytopathologiques chez les mouches sensibles et chez celles appartenant à une souche résistante. Comme il a été établi par divers chercheurs (nous en donnons une longue analyse bibliographique) que les unes et les autres sont capables de métaboliser le lindane, et possèdent le même équipement enzymatique responsable de ces réactions détoxifiantes, il est vraisemblable que les différences entre souches sensibles ou résistantes aux insecticides sont plus de nature quantitative que qualitative. Cela nous a conduit à l'étude, abordée dans la seconde partie de ce mémoire, des modalités de l'acquisition et de la perte de la résistance au lindane, chez la mouche domestique.

Après avoir passé en revue, de façon critique, les faits connus qui peuvent plaider en faveur de l'une ou l'autre des théories relatives à l'apparition des populations d'insectes résistants (isolement génétique de mutants préadaptés sous l'effet sélectif de l'insecticide, ou développement d'une accoutumance physiologique au toxique), nous avons tenté de démontrer que, dans le cas de la résistance de la mouche domestique au lindane, l'accroissement ou la perte de résistance peuvent se produire en l'absence de facteurs sélectifs.

Dans ce but, nous avons spécialement étudié l'effet de faibles doses d'insecticide, appliquées pendant de nombreuses générations successives, ou l'effet inverse de la suspension provisoire de tels traitements. Nous disposions pour cela d'une souche de mouches domestiques, isolée d'une population rurale devenue résistante à des traitements muraux à base de H.C.H. Cette souche R (I.N.A.) est élevée au laboratoire depuis plus de 15 ans, soit actuellement 185 générations (juillet 1967), en maintenant les adultes, dès leur éclosion; dans des cages dont les parois sont régulièrement traitées avec de faibles concentrations de lindane, doses ne provoquant aucune mortalité dans la population. Dans ces conditions, la résistance de la souche R (I.N.A.) n'a cessé de croître, cependant qu'une autre souche isolée à partir de R (I.N.A.) mais élevée depuis la même époque en l'absence de lindane, souche S (I.N.A.) présente actuellement une sensibilité normale à cet insecticide.

Pour apprécier correctement les faibles variations de résistance d'une génération à l'autre, ou à la suite de suspension plus ou moins

prolongée de l'action toxique, il était indispensable de comparer les diverses méthodes de tests insecticides susceptibles d'être utilisées. Nous donnons à ce sujet une analyse critique de ces méthodes et de leurs techniques et nous exposons une méthode originale de test photographique automatique (P. Pesson et F. Ramade 1959 et 1960) qui permet une grande précision dans les tests mortalité-temps, au contact de surfaces traitées avec des concentrations variées de lindane. Nous précisons également l'influence de divers facteurs abiotiques et biotiques (température, humidité relative, éclairement, sexe, âge, poids des mouches) sur la sensibilité au lindane afin de standardiser au maximum notre technique.

Il est bon de souligner que nos méthodes d'élevage (adultes seuls en contact avec l'insecticide) et nos méthodes de tests permettent de juger de l'apparition et du développement de la résistance au lindane, dans les conditions proches de celles du milieu naturel (traitements insecticides en applications murales, intoxication par contact tarsal).

Après avoir précisé le niveau de résistance au lindane, et le spectre de résistance à d'autres insecticides, de la souche R (I.N.A.) par rapport à la souche S (I.N.A.) et à la souche de référence O.M.S., nous démontrons, par une série d'expériences, 1°. que les variations du niveau de résistance se manifestent en l'absence de facteurs sélectifs, 2e. que semblent intervenir des effets d'accoutumance physiologique.

La bionomie comparée des souches R (I.N.A.), S (I.N.A.) et O.M.S. ne permettent de mettre en évidence aucune différence (morphologique ou physiologique) qui pourrait expliquer une sélection inapparente et involontaire. En particulier le poids des pupes ou des adultes est le même dans les souches R (I.N.A.) et S (I.N.A.). Si on a pu déceler, chez la souche R (I.N.A.) une proportion plus importante de nymphoses précoces, ce facteur ne peut intervenir dans la sélection, car dans nos élevages, nous avons toujours attendu que tous les asticots se soient nymphosés pour prélever les pupes et les pontes n'ont été récoltées que 10 jours après l'éclosion des premiers adultes.

Les faibles doses de lindane appliquées sur les parois des cages d'élevage de la souche R (I.N.A.) n'entraînent aucune mortalité

ni ne modifient la longévité des mouches, et de ce fait ne peuvent créer des conditions de sélection.

Par ailleurs, si on a montré (1re partie de ce travail) que des traitements avec des doses subléthales de lindane stimulent la fécondité des survivants, ce facteur ne peut avoir un rôle sélectif dans nos élevages (où aucune mortalité n'intervient), tous les individus subissant cette influence favorable. Par contre, dans le cas de suspension de l'action insecticide, cette fécondité légèrement plus grande des individus R, va à l'encontre de l'hypothèse formulée par divers auteurs, d'une prédominance progressive des individus sensibles hétérozygotes, à la faveur de leur potentiel biotique supposé plus élevé.

La réalité d'un accroissement de la résistance au lindane de la souche R (I.N.A.) au cours des générations et en l'absence de sélection, est alors établie en comparant à intervalles de 25 à 60 générations les résultats obtenus par la méthode éprouvée du test photographique (contact tarsal sur papier imprégné de lindane). L'établissement des droites de régression lt-p (logarithme du temps probits), le calcul des TL 50 (temps moyen pour obtenir 50 p. 100 de mortalité après contact tarsal avec une surface traitée au lindane et CL 50 (concentration de lindane en µg /cm²)provoquant 50 p. 100 de mortalité) montrent que la CL 50 s'est accrue de 6,5 fois en 103 générations (aux 68e, 96e et 171e générations) et que le TL 50 a considérablement augmenté de la 65e à la 182e générations, avec contrôles aux générations intermédiaires 90e et 157e.

L'étude des variations de la DL 50, par les tests d'application topique de microgouttes d'une solution acétonique de lindane, montrent également un accroisement de 2,5 fois, de la 120e à la 150e génération.

La DL 50 de notre souche R (I.N.A.) est actuellement de 3,5 µg /♀ et la CL 50 légèrement supérieure à 20 µg /cm² pour des individus d'un âge moyen de 5 jours (1), alors que pour la souche S (I.N.A.) ces valeurs sont : DL 50 = 0,03 µg /♀ et CL 50 = 0,001 µg /cm². Le cœfficient de résistance de la souche R (I.N.A.) est donc voisin de 100.

(1) Échantillon comportant des mâles et des femelles en mélange.

Nous discutons alors de l'hypothèse que la résistance décelée dans notre souche R (I.N.A.) pourrait être différente du type de résistance souvent beaucoup plus élevée (jusqu'à × 1000), obtenue par d'autres chercheurs chez la mouche domestique, par action sélective de très fortes doses d'insecticide. On a en particulier désigné sous le terme de « tolérance de vigueur » les cas où le cœfficient de résistance n'excède pas 10 fois la DL 50 normale. Il s'agirait ici de populations toujours plus homogènes, caractérisées par le fait que les droites ld-p conservent une pente égale, cependant que varie la DL 50.

Notre souche R (I.N.A.) présente cette dernière particularité, mais son cœfficient de résistance la classe parmi les cas de résistance vraie. Le fait que les droites ld-p des générations R 68, R 96 et R 171, demeurent parallèles lors de l'accroissement de résistance, souligne seulement l'homogénéité constante de nos populations, ce qui ne cadre pas avec l'hypothèse d'une sélection de R à partir d'une population hétérogène.

Les conditions dans lesquelles se manifeste une perte de résistance chez la souche R (I.N.A.) ont été précisées en suspendant pendant q générations l'action insecticide sur des adultes prélevés dans des populations de la souche R. Ces lignées particulières sont désignées P^q (R^n); ainsi P^{20} (R^{85}) désigne une lignée P séparée du contact insecticide depuis 20 générations et isolée à partie de la 85^e génération de la souche R (I.N.A.); même interprétation pour P 45 (R 139).

Ces expériences nous ont montré que la perte de résistance est d'autant plus rapide que la lignée P a été isolée d'une génération de R ayant subi moins longtemps l'action de l'insecticide : P (R 85) revient plus vite vers l'état sensible que P (R 139). Les droites ld-p ne présentent au cours de cette évolution aucun point d'inflexion, témoignant que les populations demeurent homogènes. On note aussi, à ce propos, que les TL 50 diminuent plus vite que les DL 50; ces dernières, établies par les tests microgouttes témoignent d'une action plus brutale du toxique en solution, ce qui masque certaines différences, plus subtiles, du comportement à l'égard de l'insecticide. Les TL 50, obtenues d'après les tests photographiques, permettent mieux d'apprécier l'évolution de résistance au contact insecticide.

Ces diverses expériences montrent que le caractère « résistance au lindane » développé dans la souche R (I.N.A.) n'est pas stable et régresse dès que l'on supprime l'action du contact insecticide avec les adultes.

Des croisements entre notre souche R (I.N.A.) et S (I.N.A.) ont montré que ce caractère se comporte comme ayant une dominance incomplète, les hybrides RS ont un TL 50 et une DL 50 intermédiaires entre R et S, qu'ils proviennent d'un croisement ♀ R × ♂ S ou ♀ S × ♂ R. Une expérience complémentaire consiste à accroître la résistance de populations issues de S (I.N.A), en soumettant soit les mâles, soit les femelles, soit les deux sexes, à une intoxication chronique par le lindane, et à comparer les cœfficients de résistance acquis après 10 générations. Ce cœfficient de résistance est du même ordre de grandeur, quel que soit le sexe soumis à l'action insecticide ou même si les deux sexes y sont soumis simultanément. Les femelles semblent cependant accroître un peu plus rapidement leurs résistance que les mâles. Mais le fait que le cœfficient de résistance n'est pas amélioré quand les deux sexes sont simultanément soumis à l'action insecticide, va à l'encontre de l'hypothèse d'une sélection génétique, laquelle devrait évidemment être renforcée par action additive chez les mâles et chez les femelles.

Nous avons donc finalement cherché à montrer qu'interviennent dans ces diverses modalités d'acquisition ou de perte de résistance au lindane, des processus adaptatifs d'accoutumance physiologique.

Nous avons d'abord montré que des mouches de même lignée R (I.N.A.) de même génération et de même âge (donc de populations génétiquement identiques) peuvent présenter des différences significatives de leur résistance, selon qu'elles ont été mises ou non au contact de l'insecticide dès leur éclosion et pendant une période de 7 à 10 jours. Le calcul des droites ld-p et lt-p des DL 50 et CL 50, montrent un accroissement significatif de la résistance chez les mouches élevées au contact du lindane, par rapport aux témoins. Cet accroissement ne peut relever que de modifications physiologiques consécutives à l'action propre de doses non léthales de lindane.

Nous avons ensuite montré que ce relèvement du niveau de résistance des adultes soumis au contact insecticide était transmis à la descendance. Ainsi, les pontes déposées par les mêmes femelles,

avant et après un contact insecticide (pontes à l'âge de 5 jours et à l'âge de 20 jours, avec traitement insecticide à des doses non léthales à l'âge de 10 jours) donnent des descendants dont la DL 50 est signifivaticement plus élevée chez ceux provenant de pontes déposées après le traitement insecticide. On a émis l'hypothèse que dans un tel cas une sélection inapparente peut intervenir sur les œufs *in situ* dans l'ovaire. Mais nous avons montré que les doses subléthales n'affectent pas la physiologie ovarienne, et que, même dans le cas de fortes doses, l'action insecticide s'exerce au niveau des cellules neuroendocrines du cerveau plutôt que directement sur l'ovaire.

Enfin, nous avons tenté de démontrer l'existence d'un facteur somatique de résistance, transmis par l'œuf. Des asticots de la souche sensible O.M.S. sont injectés avec un broyat d'œufs de la souche résistante R (I.N.A.) On compare ensuite, par rapport à des témoins qui ont reçu une injection de Ringer stérile, le niveau de sensibilité au lindane des adultes issus de ces asticots. Il apparaît que les individus, ayant reçu à l'état larvaire une injection de broyats d'œufs résistants, présentent une DL 50 légèrement supérieur aux témoins, mais cette différence est à la limite des intervalles de confiance.

VII. — CONCLUSION.

La souche de mouche domestique résistante au lindane R (I.N.A.) que nous avons étudiée, provenant d'une population rurale réputée résistante à des traitements insecticides muraux à base de H.C.H., peut donner naissance en élevages contrôlés, à des lignées plus résistantes ou à des lignées de sensibilité normale, sans qu'interviennent de processus sélectifs connus. C'est l'action même du lindane, auxquels sont soumis les adultes, au cours des générations, qui engendre dans l'organisme des facteurs physiologiques renforçant leur résistance au toxique.

Il est possible qu'à l'origine, la souche R (I.N.A.) soit apparue à la suite d'une sélection génétique consécutive aux traitements insecticides appliqués dans les étables. Nous ne nions pas la réalité d'une sélection dans de nombreux cas où les expérimentateurs ont

employé des doses très élevées d'insecticide pour faire apparaître et isoler des souches d'insectes résistants. Il ne nous semble cependant pas qu'il puisse exister deux types de résistance, engendrés l'une par des doses subléthales, l'autre par des doses léthales. Le cœfficient de résistance (DL 50 × 100) acquis par la souche R (I.N.A.) à la suite des doses subléthales appliquées pendant 185 générations, ne permet pas de considérer que ce cas relève d'un simple facteur de résistance de vigueur. Le retour à l'état sensible normal de la souche S (I.N.A.), issue de R (I.N.A.) en l'absence de facteurs sélectifs décelables, et en conservant une grande homogénéité des populations, ne peut s'expliquer par un processus génétique.

Nos expériences sur le rôle éventuel de facteurs non génétiques dans l'apparition et l'accroissement de la résistance au lindane chez la mouche domestique nous permettent de conclure que **cette résistance n'est pas seulement conditionnée par des facteurs génétiques, mais comporte une part de processus post-adaptatifs, du type d'une accoutumance physiologique. La résistance de la mouche domestique au lindane se manifeste comme une adaptation continue et progressive de l'ensemble des individus dans la population et non comme une sélection d'un petit nombre d'individus préadaptés.**

Cette interprétation du déterminisme de la résistance aux insecticides soulève cependant de nombreux problèmes fondamentaux.

Nous ne savons que peu de choses sur la nature exacte de cette accoutumance physiologique, ni sur les mécanismes par lesquels les gamètes élaborés par les individus exposés au contact du toxique peuvent transmettre la résistance à la descendance. Deux théories sont susceptibles de rendre compte de ces faits, mais elles demeurent pour l'instant purement hypothétiques. La première repose sur une analogie entre la résistance aux insecticides et l'immunité héréditaire : il est bien connu que les embryons de vertébrés, exposés à des antigènes ou à d'autres protéines étrangères alors qu'ils sont encore dans l'organisme maternel, sont capables d'élaborer des anticorps qui leur confèrent une immunité pendant le reste de leur vie. Ici, les ovocytes exposés par l'intermédiaire de l'hémolymphe à des traces d'insecticide, verraient leurs réactions enzymatiques détoxifiantes stimulées. Remarquons toutefois que cette théorie

explique mal le fait que la suppression du contact insecticide ne provoque pas une chute immédiate de résistance, bien que dès la 2e génération, il n'existe plus aucune trace d'insecticide dans l'organisme des individus traités.

La seconde théorie considère que les organites cellulaires et les enzymes qui interviennent dans les processus de détoxification dépendent non seulement de gènes chromosomiques, insensibles à des modifications de milieu, mais aussi de plasmagènes autoreproductibles, instables et sensibles aux conditions tant extérieures qu'intérieures. Le fait que les femelles transmettent toujours une résistance supérieure aux mâles, dans les croisements réciproques, est un élément expérimental favorable à une telle conception. L'instabilité des plasmagènes autoreproductibles rend compte de leur mutation réversible, de l'état résistant, caractérisé par une activité de synthèse intense des enzymes adaptatifs nécessaires à la métabolisation de l'insecticide, à un état sensible, où cette activité est réduite. En présence d'insecticide, le nombre de plasmagènes s'accroitrait de même que leur pouvoir d'induction pour la synthèse des enzymes détoxifiants, tandis qu'en son absence, ils passeraient à un état inactif, induisant une synthèse réduite des enzymes adaptatifs, et leur nombre diminuerait peu à peu ce qui expliquerait le retour progressif à l'état sensible.

SUMMARY

We describe in this publication our research results on the mode of action of synthesis insecticides, especially γ-B.H.C., and on resistance phenomena to these compounds by *Musca domestica*.

The preliminary part of this memory is devoted to the studying of certain intoxication aspects of *M. domestica* and a discussion of resistance mechanisms.

We first describe poisoning symptomatology in houseflies by lindane, D.D.T., phosphorous esters and Sevin : the use of an original technic of actographic recording has enabled us to characterise every insecticide studied by a specific actogramm.

We then approach histopathological study of the poisoning by γ-B.H.C. and some O P compounds by houseflies.

Electron microscopical researches on houseflies brains after γ-B.H.C. intoxications at dosages equal or higher than LD 50 has enabled us to show up numerous alterations in cerebral neurons. At early stages poisoning — effects still reversibles — appear *mitochondriae* changes (swelling and cristae dissociation) both in neurons perikarya and axons. Neurosecretory cells of *pars intercerebralis* also show cytoplasmic modifications. It happens a decrease in the number of elementary neurosecretory granules : some of them congregate and become abnormally large. Later, granules content, very osmiosphilic, seem to vanish. Thus, in brains of houseflies knock-down since several hours or paralysed, it is only seen few neurosecretory granules and even none : it stays only at this stage their cortex, very osmiophobic (Pl. VII et fig. A et B). Moreover, we then observe an increase of lysosomial structure like multivesicular bodies (Pl. X) and dense bodies.

We expect there is a correlation between these mitochondrial lesions and the cytochrome-oxydase and succinodeshydrogenase inhibition observed by several authors with biochemical or histœnzymological techniques for these ultrastructure constitute the main cellular localisation of these oxydo-reducting enzymes.

On this prospect, we have observed that γ-B.H.C. poisoning alters the biotic potential of surviving females. Houseflies treated with dosages weaker than DL 40 show an higher fecundity than control; in the contrary, insects surviving at dosages over LD 50 exhibit a progressive sterilisation in function of the applied dosage.

We expound this phenomenon like resulting not of a direct effect on ovaries but like a perturbation of cerebral neurosecretions which are known to control yolk formation.

There is obviously a correlation between ultrastructural alterations shown by neurosecretory cells of the *pars intercerebralis* at even reversible stages of poisoning and some days later in recovering females and the decrease in fecundity of females poisoned with dosages exceeding the LD 50 (1). Besides, we observe

(1) Highnam (1961, 1962), Hill (1962), Strong (1965), Girardie (1967), Possompès and al. (1967) and some others workers have shown that brain neurosecretion control ovarian developpment, especially vitellogenesis.

in these houseflies in ordinary microscopy, after Paraldehyd fushsin staining, that neurosecretory cells of the *pars intercerebralis* display a storage of their products the staining of which differs of the control.

Histœnzymological studies of *Musca domestica* brains, poisoned by OP compounds (by KOELLE method modified by COUTEAUX) have shown us that Parathion and Fenthion cause a strong inhibition of cerebral acetylcholinesterasis at early stages of poisoning (hyperexcitation). This inhibition is especially clear in associating centers and motor coordination centers of the brain (*corpus centralis and corpora pedunculata*). Reversely, Dipterex (trichlorfon) does not seem to act in the same way for brains of houseflies paralysed by this compound display only a very partial inhibition of their Ache.

The second part of this work is devoted to the study of γ-B.H.C. resistance determinism by housefly.

We have undertaken an experimentation to show that besides genetical factors are involved postadaptative phenomena in the occurence of insecticide resistance.

For this purpose, we have studied, for a long time (9 years and more than 120 generations) evolution of γ-B.H.C. resistance by an housefly strain collected in a farm from Seine et Marne, near Paris, in 1952.

Adults have been reared since this time, at each generation in cages the walls of which were smeared with an γ-B.H.C. painting at very low, sublethal concentrations of this insecticide, which did not cause any mortality in the population, as soon as the begining of our researches (1959).

A progressive increase of resistance to lindane by this strain, has been observed under influency of these low dosages. In 100 generations, LC 50 has increased from 1,3 to 8,15 μg/cm² meanwhile LD 50 arose from 2,5 to 7 μg/♀ in 65 generations (from 120 th to 185 th). These differences are highly significative.

The increase of tolerance cannot be explained by a direct selection, for we have verified that longevity, fecundity and biotic potential are not altered by the low concentration of toxic residues with which adults are in permanent contact, and are the same as these of a control of this strain reared without selective pressure.

Others experimentals facts plead for a postadaptation :

1°. — If one takes pupae coming from the same batch of eggs and if they are shared in two groups, it is observed that adults, reared as soon as their emergence in contact with insecticide at non lethal concentration are more resistant that the group kept out of γ-B.H.C. contact.

2e. — In the same population of R flies, eggs laid without previous contact of females with insecticide produce an offspring more sensible than those from eggs laid by the same females after a contact with sublethal doses of lindane (giving a mortality lesser than 2 p. 100).

3e. — Injection of R eggs brei at sensible Who strain (Pr. Milani) maggots seem to cause a slighly increase of tolerance in the offspring of these injected larvae.

Our experimental data prompt us the occurence of physiological adaptation phenomenon whose effects add to selective pressure in the increase, if not occurence of insecticide resistance.

ZUSAMMENFASSUNG

Vor Augen stellen wir hier die Ergebnisse unserer Erforschungen, die wir bei *Musca domestica* L. den Wirkungsvorgang der synthetischen Insektiziden im besonderens der Lindan und dazu die Wiederstandsfeihigkeit dieses Ungeziefers gegen diesen Insektengifte studiert haben.

Der erste Teil beschreibt gewisse Bilder der Fliegenvergiftung durch diese Gifte und untersucht die naturlichen Fliegen widerstandbauten. Der Gebrauch der neusonderen auf actographischen Einzeichnungen gegrundete Technick hat gestattet lindan, D.D.T., verschiedenen phosphorischen-Esters, endlich Sevin, jeder durch einen spezifischen Actogramm zu wurdigen.

Die elektronen mikroscopische Untersuchung der Gehirnen weiblicher *Musca domestica* vorher mit lindan vergifteten zeigt in den Gehirnsneuronen zahlreiche ultrastruckturalen Missverandeerungen.

Schon während des Uebergangstadium erzeugt die Vergiftung mitochondrialen Verletzungen und verändert sie die Neuroabson-

derungen in den neuro-sekretorischen Zellen der *pars intercerebralis* Die Zahl der elementaren körnchenbilden sinkt ab und derselben Aussehen wird verändert. Diese Missveränderungen der Neurosekretat wurden auch im Falle einer gewöhnlichen Mikroskopie in den neuroskretorischen Zellen von Gehirnen vergifteten. Fliegen beobachtet, einer DL 50 gleiche oder höhere Döse uberlebenden Weibchen und die Vitellogenese beobachteten miteinander näher gebracht.

Endlich reichen alle gehirnsneuronen der mit diesem Insekgifte gelahmten Fliegen eine bedeutende zahlvermehrung der multivesikularen korper (Ultrastrukturen von lysosomialer Natur).

Andererseits haben wir vermittels histo-chemischer Techniken studiert, wiegewise phosphorischer Esters auf das gehirn der *Musca domestica* wirken.

Der zweite Teil der giesigen Abhandlung bildet eine gegen lindan Fliegen widerstandsfähigkeit bestimmung betreffende Erforschung.

In derselben weise wie Derbeneva-Ukhova (1960-1962) und Beard (1965) haben wir versucht, ins Licht zu bringen, dass die naturliche Zuchtwahl allein ganz ungenügend ist, uns die Widerstandfähigkeit bildung und danach derselben vermechrung zu er Klären, und dass gewühnheit und physiologische Anpassung Teten noch dazu eine Rolle spielen.

Bei noch nicht tödlichen Lindanmengen zeigten nach 120 Fliegenalter eine bedeutungvolle. Wiedestands fähigkeitvermehrung erzogene Fliegen, deren Lebensdauer noch so lang wie die des Vergleischszeigen war, Sonst Solche widerstandsfähigen und schon seit ihrem aus der Puppe Auskriechen gar ohne Insektizide erzogene sieben Tage alten Fliegen zeigen eine grössere Empflindlichleit als die aus derselben Legegruppe ausgegangenen Erwashsene, ob die Letete seit dem Puppenraum herauskriechen mit sehr schwach verdichteten untödlichen Lindane flüssigkeiten begleiten werden. Ebenso die aus legungen von widerstandfähigen und ohne giftberührung Weibchen geborenen Erwachsenen empfindlicher sind als solche aus legungen derselben Weibchen geborenen, als diese Weibchen vorher von Schwachen doch eine bis 2 % sterblichkeit veranlassende lindaverdichtung vergiftet wurden.

Endlich spritzt man empfindliches stammers Who (Pr. Milani) Fliegenmaden mit aus widerstehenden Eiern stammenden Zerreibungen, so verursacht man eine leicht in F_1 Duldungsvermehrung der unvergifteten Zeugenlarven Nachkommenschaft gegenüber.

Unsere Versuchungen bringen also die Empfundung mit, dass nachanpassungs fühige Tatsachen vorhanden sind, was diegegen Insktengift Widerstand betrifft.

РЕЗЮМЕ

Цель этой работы — представить результаты наших исследований относительно действий синтетических инсектицидов, в частности линдана, и также по поводу явлений сопротивления этому продукту *Musca Domestica.*

Первая часть этой работы посвящена описанию некоторых видов отравления *Musca Domestica* синтетическими инсектицидами, и также посвящена обсуждению механизмов сопротивления.

Применяя оригинальную технику актографической записи, было возможно характеризовать линдан, Д.Д.Т., разные фосфорганические соединения и Севин при помощи специфической актограммы.

Методом электроническим микроскопом, было доказано, что мозги мухи отравленные линданом представляют множественные повреждения в самой структуре мозговых нейронов.

Начиная со стадии сильного возбуждения, отравление является причиной повреждений, митокондрии и изменений невросекреций в невросекреционных клетках *pars intercerebralis.* Количество элементарных крупинок уменьшается и они изменяются. Эти же повреждения невросекреций существуют также в невросекреционных клетках мозгов мухи, которые уцелели после отравления линданом при дозах, равных или превышающих DL 50. Мы предполагаем, что имеется связь между этими изменениями невросекреционных клеток и между расстройством овогенеза, которое можно заметить у самок уцелевших от линдана.

Мы также изучили способом гистохимической техники антигистохимическое действие на мозг *Musca Domestica* фосфорганических соединений.

Вторая часть этой работы посвящена изучению сопротивляемости линдану *Musca Domestica.*

Применяя метод работы Дервеновой-Уховой (1960-1962) и Бёрд'а (1965), мы показали, что явления отбора не достаточны, чтобы объяснить появление и увеличение устойчивости, и что нужно иметь в виду физиологическое явление приспособления и привычки.

Мухи, которых разводят при постоянной дозе линдана — доза не сокращающая срок их жизни; в результате 120-ти поколений, было показано, что они значительно увеличили свою сопротивляемость этому продукту. Но устойчивые мухи, которые были разведены без малейшей дозы инсектицида, на 7-ой день оказывают гораздо бóльшую чувствительность чем взрослые мухи из той же группы, которая всегда находилась в слабой атмосфере линдана.

Итак, взрослые мухи исходящие от самок устойчивых, но без линдана, оказывают гораздо бóльшую чувствительность, чем те, которые происходят от тех же самок, но в атмосфере линдана (слабая доза которая уничтожает приблизительно 2 % населения).

Итак, вспрыскивание размолотых яичек устойчивых мух личинкам чувствительной штаммы OMS. (Всемирная Организация Здравохранения, — проф. Милани) вызывает некоторое увеличение устойчивости в $Ф^1$, по отношению к мухам происходящих от контрольных личинок.

Наши опыты предполагают существование явлений физиологического приспособления к инсектицидам.

BIBLIOGRAPHIE

Adkisson (P. L.) et Wellso (S. G.,) — 1962. Effect of D.D.T. poisoning on the longevity and fecundity of the pink bollworm. *J. econ. Entomol.*, **55**, 842-45.

Afifi (S.) et Knutson (H.). — 1956. Reproductive potential, longevity and weight of house flies which survived one insecticide treatment. *J. econ. Entomol*, **49**, 3, 310-313.

Alexander (B. H.), Barker R. J. et Barker (F. H.), — 1958. The phosphatase activities of suceptible and resistant house flies and german cockroaches. *J. econ. Entomol*, **51**, 211-213.

Antoine (A.), — 1964. La résistance de la levure aux ions cuivriques (*Saccharomyces ellipsoideus*). *Exp. cell. Res.*, **36**, 73-85.

1965. La résistance de la levure aux ions cuivriques. — *Saccharomyces cervisiae*, Yeast-Foam, II — influence des ions Cu^{2} + sur l'apparition des cellules résistantes. *Exp. cell. Res.*, **37**, 278-91. III — Nature des deux formes résistantes. *Exp. cell. Res.*, **40**, 570-84.

Armstrong (G.), Bradbury (F.-R.), Standen (H.). — 1951. The penetration of the insect cuticle by isomers of B.H.C. *Ann. Appl. Biol.*, **38**, 3, 555-66

Arvy L., Gabe (M.), et Lhoste (J.). — 1950. Action de quelques insecticides sur le sang du Doryphore (*Chrysomela decemlineata* Say). *Bull. Soc. Entomol. Fr.*, **55**, 8, 122-7.

Baarbesgaard (P.) et Keiding (J.). — 1955. Crossing experiments with insecticide-resistant houseflies. *Vidensk. Medd. dansk. naturk. Foren.*, **177**, 84-116.

Babers (F. H.), Pratt (J. J.) et Williams (M.). — 1953. Some biological variations between strains of resistant and susceptible houseflies. *J. econ. Entomol*, **46**, 914-915.

Baccetti (B.). — 1962. L'azione del Sevin sull' epitelio intestinale degli insetti. *Redia*. **47**, 199-210.

Bacetti (B.), Melis (G.). — 1961. Osservazioni istochimiche ed ultrastrutturische su i gangli nervosi et il mesentero di *Dacus oleae* Gmel. dopo intossicazione da malathion. *Redia*, **46**, 167-75.

Barber (C. W.) et Schmitt (J. B.). — 1949. Further studies on resistance to D.D.T. in the housefly. *J. econ. Entomol*, **42**, 287-92.

Barker (R. J.) et Edmunds (L. N.), (Jr.). — 1958. Toxicity of D.D.T. in oil and in Acetone to adult D.D.T. — resistant house-flies. *J. econ Entomol*, **51**, 6, 914-915.

Barker (R. J.) et Rawhy (A. R.). — 1957. Toxicity of D.D.T. in acetone and oil. to adult house-flies. *J. econ. Entomol*, **50**, 105.

Beard (R. L.). — 1952. Effect of sublethal doses of toxicants on susceptibility of insects to insecticides. *J. econ. Entomol.*, **45**, 561-67.

1957. Selection of physiologic strains of *Oncopeltus* and its relation to insecticide resistance. *Bull. Connecticut Agric, Exp. Station*, **611**, 1-45.

1958. Secondary physiological effects of D.D.T. in *Galleria* larvae. *Ent. Exp.* et *Appl.* **1**, 260-67.

1965 a. Ovarian suppression by D.D.T. and resistance in the housefly (*Musca domestica*). *Ent. Exp. et Appl.*, **8**, 193-204.

1965 b. Competition between D.D.T. — resistant and susceptible houseflies. *J. econ. Entomol.*, **58**, 584.

Becht (G.). — 1958. Influence of D.D.T. and lindane on chordotonal organs in the cockroach. *Nature*, **181**, 777-79.

Beklemichev (V.-N.)et Derbeneva-Ukhona (V.-P.). — 1960. Oustoitchivosti tche, listonogikh k insectitsidam (La résistance des Arthropodes aux insecticides) (en russe). Ed. Min. Santé publique U.R.S.S., Moscou, 255 p.

Beye (F.). — 1960. Untersuchungen des Köperlipoidgehaltes sensibler und resistenter stubfliegen (*Musca domestica* L.). *Verh. Naturf. Ges. Basel*, **71**, 2, 283-313.

Bigley (W. S.). — 1964. Effect of ionising radiations on insecticide resistance in. houseflies. *Insect. Tox. Inf. Serv.*, (Wageningen, Netherlands), **7**, 98.

Bigley (W.) et Flapp (F. W.). — 1960. Cholinesterase and aliesterase activity in organophosphorus-susceptible and resistant houseflies. *Ann. ent. Soc. Amer.*, **53**, 360-364.

Bliss (C. I.). — 1935 a. The calculation of the dosage-mortality curve. *Ann. Appl. Biol.*, **22**, 134-65.
1935 b. The comparison of dosage-mortality data. *Ann. appl. Biol.*, **22**, 307-33
Boggild (O.) et Keiding (J. S.). — 1958. Competition in housefly larvae, experiments involving a D.D.T. — resistant and a susceptible strain. *Oikos, Act. Oecol. Scand.*: **9**, 1, 1-25.
Bradbury (F. R.). — 1957. Absorbtion and metabolism of B.H.C. in susceptible and resistant houseflies. *J. Sci. Fd. Agric.*, 8, 90-96.
Bradbury (F. R.), Cambell, Caroll (O.). — 1958. *Musca domestica* waxes and lipoids of insecticides, resistant strains. *Indian J. Malariol., Delhi*, **12**, 547-64.
Bradbury (F. R.), Nield (P.), Newmann (F. J.). — 1953. Amount of γ - B.H.C. picked up by resistant houseflies bred in a medium containing B.H.C. *Nature*, **172**, 1052.
Bradbury (F.-R.) et Standen (H.). — 1955. The fate of γ - B.H.C. in normal and resistant houseflies. I. *J. Science food and Agric.*, **6**, 90-99.
1956. B.H.C. Metabolism in *Anopheles gambiae. Nature*, 178, 1053.
1958. The fate of γ - B.H.C. in resistant and susceptible houseflies. III. *J. Sci. Food Agric. London*, **9**, 203-212.
1959. Metabolism of B.H.C. by resistant houseflies of *Musca domestica. Nature*, **183**, 983-984.
1960. Mechanisms of insect-resistance to chlorohydrocarbon insecticides. *J. Sci. Food Agric.*, **11**, 92-100.
Bridges (R. G.). — 1959. Pentachlorocyclohexene as possible intermediate metabolite of B.C.H. in houseflies. *Nature*, suppl., **184**, 17, 1337-38.
Bridges (R. G.) et Cox (J. T.). — 1959. Resistance of houseflies to γ - B.C.H. and Dieldrin. *Nature*, suppl., **184**, 1740-41.
Brooks (G. T.). — 1960. Mechanisms of resistance of the adult house-fly (*Musca domestica*) to cyclodiene insecticides. *Nature*, **186**, 96-98.
Brown (A. W. A.). — 1958. La résistance des arthropodes aux insecticides. Ed. O.M.S., Genève, traduction française, 1959, 260 p.
1961 a. The challenge of insecticide resistance. *Bul. Soc. Ent. Amer.*, **1**, 6-19.
1961 b. Insect control by chemicals. John Wiley and Sons, New York, 3e éd. 817 p.
1963. Mode d'action du lindane, histopathologie, Pathology of insecticides in. Steinhaus E.E., *Insect Pathology*, **1**, 86-87. Acad. Press N. Y.
Bruce (W.N.) et Decker (G. C.). — 1950. House fly tolerance for insecticides. *Soap and Sanit. chem.*, **26**, 122-25, 145-47.
Brun (J. L.). — 1966 a. L'adaptation aux températures élevées chez un Nématode : *Caenorhabdits elegans* Maupas. I — L'adaptation et son évolution. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys. I.N.R.A.*, **6** (2), 127-58.
1966 b. II — Stabilité et physiologie de l'adaptation. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys. I.N.R.A.* **6** (3) 267- 300.
1966 c. III — Rôle de facteurs autres que la température. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys. I.N.R.A.* **6** (4), 439-66.
Buei (K.). — 1963. Biological differences between resistant and susceptible strains of the house fly. *Botyu-Kagaku*, **28**, 98, 99-103.
Buei (K.) and Fukuhara (Y.). — 1964. The relation between the length of the larval period and adult susceptibilities to insecticides in the housefly. *Botyu-Kagaku*, **29**, 9.
Busvine (J. R.). — 1951. Mechanism of resistance to insecticide in houseflies. *Nature*, **168**, 193-95.
1954. Houseflies resistant to a group of chlorinated hydrocarbons insecticides. Nature, **174**, 783-85.
1957. A critical review of the techniques for testing insecticides. Commonw. Inst. Ent., London, 208 p.
1958. Insecticide-resistance in bed-bugs. *Bull. World Hlth. Org.*, **19**, 1041-52.
1960. La résistance aux insecticides. *Phytiatrie-Phytopharmacie*, **9**, 149-59.
1962.. The problem of insecticide resistance. *Journ.-Hyg. Epid. Microb. Imm., Prague*, **VI**, 243-55.
1963. The present status of insecticide resistance. *Bull. Org. Mond. Santé*, **29**, suppl., 31-40.
1964. The insecticidal potency of γ - B.H.C. and the chlorinated cyclodiene compounds and the significance of resistance to them. *Bull. entom. Res.*, **55**, 2, 271-288.
1965. Outstanding problems in the genetics of insecticids resistance. *Proc. XII Int. Congr. Ent. London*, 1964 (1965), 243-44.

Busvine (J. R.) et Khan (N. H.). — 1955. Inheritance of B.H.C. resistance in the housefly. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **49**, 455-59.
Busvine (J. R.) et Shanahan (G. J.). — 1961. The resistance spectrum of a Dieldrin-resistant strain of the blowfly (*Lucilia cuprina* Wied.). *Ent. exp. appl.*, **4**, 1-6.
Busvine (J. R.) et Townsend (M. G.). — 1963. The significance of B.H.C. degradation in the resistant house flies. *Bull. Ent. Res.*, **53**, 4, 763-68.
Caldwell (A. H.). — 1956. Dry ice as an insect anesthetic. *J. econ. Entomol.*, **49**, 264.
Chaboussou (F.) 1966. Traitements pesticides et déséquilibres biologiques. *Rev. Zool. Agric. et Appl.*, **10-12**, 133-60.
Chadwick (L.-E.). — 1954. Recent advances in basic studies on insect physiology in relation to mechanisms of resistance to insecticides. *R. C. Ist. Sup. Sanita*, suppl. 219-239.
Chang (P. I.). — 1951. The action of D.D.T. on the Golgi bodies in insects nervous tissue. *Ann. entom. Soc. Amer.*, **44**, 311-26.
Ciuca (M.). — 1956. Le paludisme en Roumanie de 1949 à 1959. *Bull. Org. Mond. Santé*, **15**, 725-51.
Clark (A. G.), Hitchoock (M.) et Smith (J. V.). — 1966. Metabolism of γ - B.C.H. in flies, ticks and Locusts. *Nature*, **209** (2018), 103.
Clark (H.-B.) et Butz (A.). — 1961. The effects of some insecticides on the metabolites of *Blatella germanica*. *J. econ. Entomol.*, **54**, 1022-24.
Cochran (J. M.), Grayson (J. M.) et Levitan (M.). — 1952. Chromosomal and cytoplasmic factors in transmission of D.D.T. resistance in the german cockroach. *J. econ. Entomol.*, **45**, (6) 997-1001.
Cohen-Bazire et Jolit. — 1953. Isolement par sélection de mutants *d'Escherischia coli* synthétisant spontanément l'amylomaltase et la β - galactosidase. *Ann. Inst. Pasteur Fr.*, **84**, 5, 937-45.
Cohen (A. J.), Smith (J. W.) et Trabert, — 1964. Comparative detoxication : 5 The metabolism of some halogened compounds by conjugation with glutathione in the locusts. *Biochem. J.*, **90**, 449-56.
Cole (M.M.). — 1957. Further studies on resistance of human body lice to insecticides. *J. econ. Entomol.*, **50**, 556-59.
Colhoun (E. H.). — 1958. Tetraethylpyrophosphate and acetylcholine in *Periplaneta americana*, *Science*, **127**, 25.
Colhoun (E. H.). — 1959 a. Acetylcholin in *Periplaneta americana*. III. L'acétylcholine chez des Blattes traitées au TEPP et au D.D.T. *Can. J. Biochem. and Physiol.*, **37**, 259-72.
1959 b. Physiological events in O.P. poisoning. *Canad. J. Biochem. and Physiol.*, **37**, 1127-34.
Constantin (J.). — 1950. Rôle du temps de contact de la surface et de la zone traitée dans les effets toxiques de l'H.C.H. sur *Gryllus domesticus*. *Rev. Path. Veg. Ent. Agric. Fr.*, **29**, 4, 213-15.
Coupin (M.-L.). — 1953. Action du Parathion sur le sang de *Gryllus domesticus*. *C. R. Acad. Agric. Fr.*, **39**, 505-508.
Couteaux (R.). et Taxi (J.). — 1951. Recherches histochimiques sur les cholinestérases synaptiques. *C. R. Ass. Anat.* **38**e *Réunion Nancy*, **70**, 1030.
Couteaux (R.) et Taxi (J.) — 1952. Recherches histochimiques sur la distribution des activités cholinestératiques au niveau de la synapse myoneurale *Arch. Anat. min. Morph. Exp.*, **41**, p. 352-92.
Crow (J. F.). — 1954. Analysis of a D.D.T. resistant strain in *Drosophila*. *J. econ. Entomol.*, **47**, 393-398.
1957. Genetics of insect resistance to chemicals. *Ann. Rev. Ent.*, **2**, 227-46.
Dahm (P. A.) et Kearns (C. W.) — 1951. A study of certain metabolic intermediates in the normal and D.D.T. — poisoned housefly adult. *Ann. Entomol. Soc. Amer.* **44**, 573-80.
d'Alessandro (G.) et al. — 1949. Sulla resistenza delle mosche al D.D.T. *Sicilia med.*, **6**, 5-16.
David (J.) — 1961. Influence de l'état physiologique des parents sur les caractères des descendants. Étude chez *Drosophila melanogaster*, Meig. Thèse Lyon (Faculté des Sciences). 79 p. *L'expansion Éd.*
Davidow (B.) et Frawley (J. P.). — 1951. Tissue distribution, accumulation and elimination of the isomers of B.H.C. *Proc. New York Soc. Expt. Biol.*, **76**, 780.
Decker (G. C.) et Bruce (W. N.). — 1952. House fly Resistance to chemicals. *Amer J. Trop. Med.*, **1**, 3, 395-403.

Derbeneva-Ukhova (V.P.). — 1960. Lois du développement et pertes de la resistivité de *Musca domestica* contre les insecticides en laboratoire et dans les conditions naturelles. (en russe). *Cetvertiz Sezd Vses. ent. Obsc. Dokl.* (C. R. 4e Congr. Soc. ent. U.R.S.S.) Leningrad, 221-23.
1962. Some data on the development and loss of insecticide resistance in the house fly (*Musca domestica*) in laboratory and natural conditions. XI. *Intern. Kongr. Entomol. Verhandlg.* II, Wien. 1960. Wien, Druck, christoph. Reisser's Söhne, 1962, 24 × 17, 451-4.

Derbeneva-Ukhova (V. P.) et Lineva (V. A.). — 1952. O Karactere Oustoitchivosti estetvenouikh populatsii komnatoi mukh (*Musca domestica* L.) k. D.D.T. i geksachloran. (en russe). *Medts. Parasitol.* **2**, 153-160.
1959. Opyt primeneniia chlorophossa v borbiè c popouliatsiei *M. domestica* L. oustoïtchivoï K chlorirovaunouim ouglevodorodam (en russe) (Application du chlorophospour lutter contre une population de *Musca domestica* résistante aux hydrocarbures chlorés). *Med. Paras. Mal. Moscou*, **1**, 44-53.

Doby (J. M.), Friteau (M.), Rault (B.). — 1960. Recherche d'une éventuelle résistance acquise par accoutumance des larve au D.D.T. au cours d'une seule génération chez *Aedes cantans, Aedes rusticus et Aedes aegypti* (Culicidés). *Bull. Soc. Sci. Bretagne*, **35**, 1-2, 53-62.

Duncan (J.). — 1963. Post-treatment effect of sublethal dose of dieldrin on the mosquito *Aedes aegypti* L. *Ann. appl. Biol.*, **52**, 1-6.

Ephrussi (B.) et Beadle (G. W.). — 1935. La transplantation des ovaires chez la Drosophile. *Bull. biol. France et Belgique*, **LXIX**, 4, 492-502.
1936. A technique of transplantation for *Drosophila. Amer Natur.*, **70**, 218-225.

Farnham (A. W.), Gregory (G. E.) et Sawicki (R. M.). — 1966. Bioassay and histochemical studies of the poisoning and recovery of houseflies (*Musca domestica* L.), treated with diazinon and diazoxon. *Bull. Entom. Res.* **57**, 1, 107-116.

Ferreri (E.), Bacetti (B.). — 1962. Effetti del Sevin sulla attivita lipolitica del mesentero di *Aiolopius strepens* Latr. *Redia*, **47**, 189-98.

Fisher (R. A.) et Yates (F.). — 1963. Statistical tables for agricultural, biological and medical research. Oliver and Boyd Ed. London. 6e éd., 146 p.

Frontali (N.),— 1956. Attivita della colinesterasi in ceppi sensibili e in ceppi resistenti al D.D.T. di *Musca domestica. R. C. Ist. Sup. Sanità*, **19**.

Gaddum (J. H.). — 1933. Reports on biological standarts. III — Methods of biological assay depending on quantal response. *Med. Res. Concil. Spec. Rep.*, **183**, M. M.Stat.

Gagliani (M.). — 1952. Durato del ciclo larvale in ceppi di *Musca domestica* sensibili e resistanti al D.D.T. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, **28**, 326-328.

Georghiou (G. P.). — 1965. Effects of carbamates on house-fly fecundity, longevity and food intake. *J. econ. Entomol.*, **58**, (1), 58-62.

Gerolt (Ph.). — 1965. The fate of Dieldrin in Insects. *J. econ. Entomol.*, **58**, (5), 849-57.

Gerschenfeld (H. M.), Tramezzani (J.) et De Robertis (E.). — 1960. Ultrastructure and function in neurohypophysis of the toad. *Endocrinology*, **66**, 741-62.

Girardie (A.). — 1966. Contrôle de l'activité génitale chez *Locusta migratoria.* Mise en évidence d'un facteur gonadotrope et d'un facteur allatotrope dans la *Pars intercerebralis. Bull. Soc. Zool. Fr.*, **91**, 3, 423-39.

Gosswald (K.). — 1934. Die wirkung des Kontaktgiftes Pyrethrum auf Forst-schädlinge unter dem Einflussder physiologischen disposition der Schadlinge und der Einwirkung von Okologischen aussen-faktoren. *Zeit. angew. Ent.*, 20, 489-530.

Grandori (L.) et Reali (G.). — 1950. Uso dei narcotici nello studio del meccanismo di azione del D.D.T. sugli insetti. *Boll. Zool. Agrar. e. bachicolt.*, 16, 1-14.

Grayson. — 1951. Response of *Blatella germanica* to sublethal doses of D.D.T. and — B.H.C. *J. econ. Entomol.*, **44**, 315-17.
1953. Effect on the german cockroach of twelve generation of selection for survival to treatments with D.D.T. and B.H.C. *J. econ. Entomol.*, **46**, 124-27.

Guneidy (A. .M) et Busvine (J. R.). — 1964. Genetical studies on Dieldrin-resistance in *Musca domestica* L. and *Lucilia cuprina* Wied. *Bull. Entom. Res.*, **55**, 3.

Guthrie (F. E.). — 1950. Holding temperature and insecticidal mortality : *Blattella. J. econ. Entomol.*, **43**, 559-60.

Hadaway (A. B.). — 1956. Cumulative effect of sublethal doses of insecticides on houseflies *Nature*, **178**, 149-150.

Hadaway (A. B.) et Barlow (F.). — 1957. The influence of temperature and humidity on the action of insecticides during the post-treatment period. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, **51**, 187-193.

Hamori (J.). — 1960. Cholinesterases in insect muscle innervation with special reference to insecticide effect of D.D.T. and D.F.P. Histochemistry of cholinesterases. Symposium Basel, 2, 194-206. Karger edit., Bâle et New York (1961).

Harrison (C. M.). — 1952 D.D.T. resistance in an italian strain of *Musca domestica*. *Bull. entom. Res.*, **42**, 761.

Hartley (J. B.) et Brown (A. W. A.). — 1955. The effects of certain insecticides on the cholinesterases of the Americal Cockroach (P. americana). *J. econ. Entomol.* **48**, 265-69.

Hartzell (A.). — 1945. Histopathological effects of certain sprays and activators on the nerves and muscles of the housefly. (*Contrib. Boyce Thoms. Inst.*, **13**, 443-53.

Hartzell (A.) et Scudder (H. I.). — 1942 Histological effects of Pyrethrum and an activator on the central nervous system of the housefly. *J. econ. Entomol.*, **35**, 428-33.

Hartzell (A.) et Strong (M.) — 1944. Histological effect of piperine on the central nervous system of the housefly. *Contr. Boyce Thoms. Inst.*, **13**, 253-257.

Harvey (G. T.) et Brown (A. W. A.) — 1951. The effects of insecticides on the rate of oxygen consumption in *Blattella*. *Canad. J. Zool.*, **29**, 42-53.

Heidenreich (E.). — 1960. Insektizide Resistenz und genetische relationen. *Z. Angew. Entom.* **46**, 4, 420-31.

Highnam (K. C.). — 1961. The histology of the neurosecretion system of the adult of desert locust, *Schistocerca gregaria*. *Quart. J. micr. Sci.*, **102**, 27-38.
1962. The neurosecretory control of ovarian development in *Schistocerca gregaria*. *Quart. J. micr. Sci.*, **103**, 1, -57-72.

Hill (L.). — 1962. Neurosecretory control of haemolymph protein concentration during ovarian development in the desert locust. *J. Insect. Physiol.*, **8**, -609-619.

Hiroyoshi (T.). — 1960. Some new mutants and Linkage group in the housefly *J. econ. Entomol.*, **53**, 6, 985-90.

Hogson (E. S.) et Geldiay (S.). — 1959. Experimentally induced release of neurosecretory materials from roach *corpora cardiaca*. *Biol. Bull.*, **117**, 275-83.

Hoffman (R. A.), Roth (A. R.), Lindquist (A. W.). — 1951. Effect on houseflies of intermittent exposures to small amounts of D.D.T. residues *J. econ. Entomol.*, **44**, 734.

Hopp (H. H.). — 1953. Histologische Veränderungen in den Organen der Kleiderlaus unter der Einwirkung von Insekticiden (Chlorierten kohlenwasserstoffen). *Zool. Jahrb., Abt. Allg. Zool., Phys. Tiere*, **64**, 207-322.

Hoskins (W. M.). — 1947. Bioassay in Entomological research. *Zeits. für Pflanz un Pflanzenschutz*, **64**, 7-10.
1959. Factors involved in the development of resistance to insecticides and some measures to reduce its effect. *Mosquito News*, **19**, 2, 52-62.
1960. Use of the dosage-mortality Curve in quantitative estimation of insecticide resistance *Miscell. Publ. of Ent. Soc. Amer.* **2**, 1, 85-91.
1962. Physiology and biochemistry of resistance to chlorinated hydrocarbons. in XI Int. Cong. Ent. Verhandlg III, 1960. Wien Druck : Christoph Reisser's Söhne, 1962, 14 × 17, 227-29.

Hoskins (W. M.) et Craig (R.). — 1962. Use of bioassay in Entomology. *Ann. Rev. Entom.* **7**, 437-64.

Hoskins (W. M.) et Gordon (H. T.). — 1956. Arthropod resistance to chemicals. *Ann. Rev. Ent.* **1**, 89-122.

Hsiao (C.) et Fraenkel (G.). — 1966. Neurosecretory cells in the C.N.S. of the adult blowfly *Phormia regina* Meigen. *J. Morph.*, **119**, 1, 21-38.

Hueck (H. J.), Kuenen (D. J.) et al. 1952. The increase of eggs production of the fruit tree red spider mite (*Metatetranychus ulmi* Kock) under influence of D.D.T. *Physiol. Comp. Oecol.*, 2, 371-75.

Hunter (E.), Cutkomp (L. K.), Kolkaila (A. M.). — 1958. Reproduction in D.D.T. and Diazinon treated Houseflies. *J. econ. Entomol.*, **51**, 5, 579-82.
1959. Reproduction following insecticidal treatment in two resistant strains of houseflies. *J. econ. Entomol.*, 52, 4, 765-66.

Ishida et Dahm (P. A.). — 1965 a. Metabolism of B.H.C. isomers and related compounds in vitro. I. Properties and distribution of the Enzymes. *J. econ. Entomol.*, 58 (3), 383-392.
1965 b. Metabolism of B.H.C. isomers and related compounds in vitro. II. Purification and stereospecificity of housefly enzymes. *J. econ. Entomol.* 58 (4), 602-607.

Jochum (F.). — 1956. Modification des réactions dans l'organisme des insectes par le diéthyl-para-nitrophényl-thiophosphate. *Hofchen-Briefe*, **6**, 289-346.
Johnston (E. F.), Bogart (R.) et Lindquist (A. W.) — 1954. The resistance to D.D.T. by houseflies. Some genetic and environmental factors. *J. Heredity*, **45**, 177-182.
Jolivet (G.). — 1957. Action des insecticides synthétiques sur les Muscides, étude particulière sur les stades préimaginaux. *Thèse Vét. Ecole Nat. Alfort*, **38**, 1-90.
Jover (H.) et Brenière (J.). — 1950. Recherches sur le mode d'action de l'H.C.H. γ, en tant qu'insecticide de contact, sur le grillon domestique : *Gryllulus domesticus* L. *Rev. Path. Veget. Ent. Agric*, **29**, 4, 195-212.
Kasai (T.) et Ogita (Z.). — 1965. A genetic study on Sevin-resistance and joint toxic action of Sevin with — B.H.C. in two resistant lines of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, **43**, 577-93.
Kearns (C. W.). — 1956. The mode of action of insecticides. *Ann. Rev. Entom.*, **1**, 123-48.
Keiding (J.). — 1956. Resistance to organic phosphorous insecticides of housefly. *Science*, **123**, n° 3029, 1173-74.
1959. House-fly control and resistance to insecticides on Danish-farms. *Ann. Appl. Biol.*, **47**, 3, 621-618.
Keiding (J.). — 1963. Possible reversal of resistance. *Bull. Org. Mond. Santé.*, 29, suppl. 51-62.
Kerr (W. E.). — 1960. Sex limited resistance on house-flies. *Nature*, 185, 868.
King (J. C.). — 1954. The genetics of resistance to D.D.T. in *Drosophila melanogaster*. *J. econ. Entomol.*, **47**, 387-393.
King (R. C.), Aggarwal (S. K.) et Bodenstein (D.) — 1966. The comparative submicroscopic cytology of the *Corpus allatum - corpus cardiacum* complex of wild type and *fes* adult ♀ *Drosophila melanogaster*, Meig. *Journ. Exp. Zool.* 161 (2), p. 151-75.
King (W. V.). — 1950. D.D.T. resistant house-flies and mosquitoes. *J. econ. Entomol.* **43**, 527-32.
Kiyoku (M.) et Tamaki (H.). — 1959. Modification in biotic potential of insects surviving exposure to an insecticide. *Scient. Reports of Fac. Agric., Okayama Univ.*, **14**, 1-6.
Kiyoku (M.) et Tsukuda (R.) — 1964. Considerations on the adaptative changes induced by the insecticidal selection in experimental populations of *Callosobruchus sinensis*. *Scient. Reports Fac. Agric. Okayama Univ.*, **24**, 9-18.
Knutson (H.). — 1955. Modification of fecondity and life span of *Drosophila melanogaster*. Meig. following a sublethal traitement to an insecticide. *Ann. ent. Soc. Amer.* **48**, 35.
1959. Changes in reproductive potential in houseflies in response to dieldrin. *Misc. Publ. ent. Soc. Amer.*, **1**, 27-32.
Kuenen (D. J.). — 1958. Influence of sublethal doses of D.D.T. upon the multiplication rate of *Sitophilus granarius*. *Entom. Exp. et Appl.*, 1, 147-52.
Kuipers (J.). — 1962. Het effect van sublethale doses van D.D.T. en Parathion op de ei produktie van de colorado kever (*Leptinotarsa* 10- *lineata* Say). C. R. du 14e Symposium international de Phytopharmacie Gand, 908-19.
Lamotte (M.). — 1962. Initiation aux méthodes statistiques en biologie. Masson, Paris, 144 p.
Lavagnino (A.). — 1953. Su di un tentativo di selezionare ceppi di *Musca domestica* resistenti agli insetticidi clorurati attraverso il trattamento degli studi larvali. *Mem. soc. Entom. Ital.*, **32**, 36-40.
Lhoste (J.) et Roche (A.). — 1956 a. Lésion des glanglions cérébroïdes consécutives à l'intoxication par l'heptachlore de *Blabera fusca* Br. *Bull. Soc. Zool. France. LXXXI*, n° 2-3 172.
1956 b. Action de l'heptachlore sur les ganglions cérébroïdes de la blatte *Blabera fusca* Br. *Arch. Anatom. micr. Morph. Exp.*, **45**, 302-310.
Lineva (V. A.). — 1955. Izmeniia v ovogeneze kommatoï mukh (*Musca domestica*) pod voz deistviem D.D.T. (en russe) (Altérations dans l'ovogénèse de la mouche domestique sous l'influence du D.D.T.). *Zool. Journ.*, **34**, 6.
1960. a. Modifications de l'ovogénèse chez *Musca domestica* sous l'influence des insecticides. *Celvertyj Sezd Vses. ent. Obsc. Tez. Dokl.* (C. R. 4e cong. Soc. ent. U.R.S.S.) Leningrad, 236-37.
1960. b. Izmeniia v ovogenese Kommatoï mukh *M. domestica* L. pod vozdeistviem diazinona (Altérations de l'ovogénèse de *Musca domestica* sous l'influence du Diazinon, in « Resistance des Arthropodes aux insecticides » par Beklemichev et

Derbeneva-Ukhova) (en russe). Édit. de l'Inst. Matzinowski de parasitologie médicale, Ministère de la Santé publique de l'U.R.S.S., Moscou, 154-168.
1962. Change in the susceptibility of the housefly to chlorophos over a period of five seasons. *Journ. Hyg. epidemiol. Microb. Immunology, Prague*, VI, 271-277.
Lord (K. A.) et Potter (C.). — 1951. Studies on the mecanism of insecticidal action of organophosphate compounds, with particular reference to anti-esterase activity. *Ann. Appl. Biol.* **38**, 495-507.
1954. Differences in esterases from insect species : toxicity of organophosphorous compounds and *in vitro* esterase activity. *J. Sci. Food. Agric.*, **5**, 490-98.
Lord (K. A.), Molloy (F. M.), Potter (C.). — 1963. Penetration of Diazoxon and Acethylcholine into thoracic ganglia in susceptible and resistant house-flies and the effects of fixatives. *Bull. ent. Res.*, **2**, 189-97.
Lord (K. A.) et Rasmusson (B.). — 1961. Phospholipid content in different strains of *Drosophila melanogaster* and the tentative relation to resistance to organophosphorous compounds. *Kungl. lantbrukshögskolans annaler*, **27**, 343-50.
Loschiavo (S. R.). — 1955. Rates of oviposition of *Tribolium confusum* Duv. surviving to residues of D.D.T. *Canad. Ent.* 87, 266-69.
Luers (H.). — 1953. Untersuchung zur frage der Mutagenität des Kontaktinsecktizids D.D.T. an *Drosophila melanogaster*. *Naturwiss.* **10**, 293.
Luers (T.) et Kopf (H.). — 1955. Histologische Untersuchungen am Zentralnervensystem von *Drosophila* und *Musca* nach H.C.H. vergiftung. *Z. Naturf. Tübingen*, **10** b, 588-91.
Luers (T.), Kopf (H.) et Luers (H.) — 1953. Ueber Nervenzell-Veränderungen bei *Drosophila* nach E. 605. Vergiftung, *Biol. Zentr.*, 72, 478-493.
Mac Cuaig (R. D.). — 1961. Determination if the resistance of locusts to γ-B.H.C. and Diazinon in relation to their age, sex and weight. *Ann. appl. Biol.*, **49**, **1**, 22-31.
Mc Kenzie (R. E.) et Woskins (W. M.). — 1954. Correlation between the length of the larval period of *Musca domestica* and resistance to insecticides. *J. econ. Entomol.* **47**, 6, 984-992.
March (R. B.). — 1952. Summary of research on insects resistants to insecticides. *In* : National Research council publication, Division of Medical sciences, Conference on Insecticide Resistance and Insect Physiology, Dec. 8-9, 1951, Washington, 45-53.
March (R. B.) et Lewallen (L. L.). — 1950. A comparison of D.D.T. —resistant and non resistant houseflies. *J. econ Entomol.*, **43**, 721-722.
March (R. B.), Lewallen (L. .L) et Metcalf (R. L.). — 1956. Résumé des études sur la destruction des mouches domestiques résistantes par les insecticides organo phosphorés en Californie du Sud. Notes de l'O.M.S. sur la résistance aux insecticides, **59**, p. 17 (Publication ronéotypée).
March (R. B.), Metcalf (R. L.). — 1949. Development of resistance to organic insecticides other than D.D.T. by houseflies. *J. econ Entomol.* 42, 6, 990-991.
1950. Insecticide resistant flies. *Soap sanit. Chem. U.S.A.*, 26, n° 7, 121, 123, 125, 139.
1952. Insecticide research for the control of resistant houseflies. *Pest control*, 20, 4, 12-18.
1953. Outloock in fly resistance to insecticides. *Agric. chemic.* **8**, 10, 102, 103.
Mather (K.). — 1965. Analyse statistique en biologie. Ed. française par Gauthier Villars de Statistical analysis in Biology, Methuen, London 1943, 320 p.
Matsubara (H.). — 1960. On the sexual difference of characteristics of housefly lipids. *Botgu-Kagaku*, **25**, 138-143.
Melamed (J.) et Trujillo-cenoz O., — 1963. Electron Microscopic observation on the reactional changes occuring in the insect nerve fibers after transection. *Z. Zell. forsch. mikr. anat.*, **59**, 6, 851-56.
Mello (D.), Pigatti (A.). — 1961. Estudos sôbre una colônia de môscas domesticas multiploresistentes à insecticidas no municipio de cosmôpolis, Sao-Paulo. *Arqu. Inst. biol. Bras.* **28**, 63-70.
Meltzer (J.). — 1956. Multiresistentie bij *Musca domestica* L., opgewekt door selektie met insekticiden. *Meded. Rijks. Opzvek. Staat Gent.*, **31**, 459-82.
1958. Unspecific resistance mechanisms in the house-fly *Musca domestica* L. *Indian J. Malariol.*, **12**, 579, 88.
Menn (J.), Benjamini (E.) et Hoskins (W. M.). — 1957. The effects of temperature and stade of life cycle upon the toxicity and metabolism of D.D.T. in the house-fly. *J. econ. Entomol.*, **50**, 67-74.

MERRELL (D. J.) et UNDERHILL (J. C.). — 1957. Selection for D.D.T. resistance in inbred, Laboratory and wild stock of *Drosophila melanogaster*. *J. econ. Entomol.*, **49**, 300-306.

METCALF (R. L.). — 1955. Physiological basis for insect resistance to insecticides. *Phys. Rev.* **35**, 197-232.

METCALF (R. L.) et MARCH (R. B.). — 1949. Studies on the mode of action of Parathion and its derivatives and their toxicity to insects. *J. econ. Entomol.*, **42**, 6, 721-28.
1950. Properties of acetylcholine esterases from bee, fly and mouse and their relation to insecticide action. *J. econ. Entomol.*, **43**, 670-77.

MILANI (R.). — 1954. The genetic of the housefly. Preliminary note. Caryologia, suppl. (atti del IX Congresso intern. di Genetica, 791-96.
1955. Considerazione-genetiche su alcuni aspetti della biologia della mosca domestica e osservazioni sulla fecondita et sulla fertilita. *Riv. Parassit.*, **16**, 4, 257-70.
1956. Richerche genetiche sulla resistanza degli insetti alla azione delle sostanze tossiche. *Riv. Parassit.*, **XVII**, 4, 223-46.
1957. Ricerche genetiche sulla resistenza degli insetti alla azione delle sostanze tossiche. *Riv. Parassit.*, **XVIII**, 1, 43-60.
1959. Genetical considerations on insect resistance to insecticides. *Genetica Agraria* **X**, 3-4, 288-308.
1960. a Genetic studies on insecticide-resistant insects. *Misc. Publ. ent. soc. Amer.* **2**, 75-83.
1960. b The genetics of resistance. *Proc. XI. Int. Cong. Ent. Vienne*, n° 3, 1962 232-238.
1961. Genetica della resistenza agli insetticidi. *Genetica Agraria*. XIV, 3-4, 234-51.
1962. Observations on intraspecific differentiation, genetic variability sex-limited inheritance, D.D.T.— Resistance and aspects of sexual behaviour in *Musca domestica*. *Atti del Simposio Internazionale di Biologica sperimantale Pavia*, 1959, vol. IX, 1-16, Ed. Technostampa, —. Emilia.
1963. Genetical aspects of insecticide resistance. *Bull. Org. Mond. Santé* **29**, suppl., 77-87.
1965. Development and distribution of a standard reference strain of *Musca domestica*. *Insect. Tox. Inf. Serv.* (*Wageningen*) **8**, p. 156.

MOLLOY (F. M.). — 1961. The histochemistry of cholinesterases in the central nervous system of susceptible and resistant strains of the house-fly *Musca domestica* L. in relation to diazinon poisoning. *Bull. Ent. Res.*, **52**, 4, 667-681.

MONOD (J.). — 1952. Inducteurs et inhibiteurs spécifiques dans la biosynthèse d'un enzyme la β - galactosidase d'*Escherischia coli*. *Bull. Org. Mond. Santé*, **6**, 1-2, 59-64.
1952. La synthèse de la β - galactosidase chez les entérobactériacées. Facteurs génétiques et facteurs chimiques. *Schweiz. Z. allg. Pathol. Bacteriol.* **15**, 4, 407-17.

MONOD (J.), COHEN-BAZIRE (G.) et COHN (M.) — 1951. Sur la biosynthèse de la β-galactosidase chez *Escherischia coli*. La spécifité de l'induction. *Biochim. biophys. Acta*, 1951, **7**, 4, 585-99.

MORRISON (P. .E.), BROWN (A. W. A.). — 1954. The effects of insecticides on cytochrome-oxidase obtained from the american coakroach. *J. econ. Entomol.*, **47**, 5, 723-30.

MOUSSA (T. A.) et BANWAHY (M.). — 1959. Effect of insecticides on the bodies of Nissl and neurofibrillae of *Schistocerca gregaria*. *Nature*, **184**, 915-916.
1959. The action of B.H.C. and pyrethrum on the dictyosomes of the insect nerve cells *Annals Zool. Pub. Acad. Zool.* III, 4, 43-52.

NERI (I.). — 1951. Influenza della temperatura nell'azione di alcuni insetticidi di contatto sulla mosca domestica. *Ist. sup. sanit. Rendic. Ital.*, **19**, 8. 606-611.

NGUY (V. D.) et BUSVINE (E.). — 1960. Studies on the genetics of resistance to parathion and malathion in the houseflies. *Bull. World Hlth Org. Genève*, 22, 531-42.

NORTON (R.). — 1953. Inhéritance of D.D.T. tolerance in the housefly. Contrib. *Boyce-Thomson Inst.*, 17, 105-106.

NOVIKOFF (A. B.) et SHIN (W. Y.). — 1964. The endoplasmic reticulum in the golgi zone and its relations to microbodies golgi apparatus and autophagic vacuoles in rat liver cells. *J. micr.* **3**, 187-206.

NOVICKOFF (A. B.) et ESNNER, — 1964. Experience non publiée, citée in Novickoff et Shin (1964).

O'BRIEN (R. D.). 1957. The effect of malathion and its isomer on carbohydrate metabolism of the mouse; cockroach and house fly. *J. econ. Entomol.* **50**, 1, 79-84.

O'Lie (A.). — 1967. The medial neurosecretory cells an egg maturation in mosquitoes. *J. ins. Phys.*, **13**, 419-29.

Oppenoorth (F. J.). — 1954. Difference between rate of metabolism of B.H.C. in resistant and susceptible houseflies. *Nature*, **175**, 124-25.
1955. Metabolism of γ -B.H.C. in susceptible and in resistant house-fly. *Nature*, **173**, 1000-1001.
1956. Resistance to γ -B.H.C. in *Musca domestica* L. *Arch. neerl. Zool.* **12**, 1-62.
1965. Biochemical genetics of insecticide resistance. *Ann. Rev. Entom.*, **10**, 185-206.

Oppenoorth (F. J.) et Dresden (D.). — 1953. Selection of a B.H.C. resistant strain of *D. melanogaster*. *Bull. Ent. Res.*, **44**, 395-400.
1958. Dicsussion of some methods for the measurement of degrees of resistance. *Indian Journ. Malariology*. **12**, 309-315.

Oppenoorth (F. J.) et Nasrat (G. S.). — 1966. Genetics of Dieldrin and γ -B.H.C. resistance in the housefly *Ent. Exp. et appl.*, **9**, 223-31.

Orser (W. B.) et Brown (A. W. A.). — 1951. The effect of insecticides on the heart-beat of *Periplaneta*. *Canad. J. Zool.*, **29**, 54-64.

Ozburn (G. W.) et Morrison (F. O.). — 1965. The pattern and extent of D.D.T. — Resistance development and loss in the housefly (*M. domestica*) strains as related to the sex and stage exposed to the selective pressure. *Ann. Soc. Ent. Quebec*, **10**, 1, 26-32.

Pasquier (R.). — 1947. Séméiologie de l'intoxication de *Schistocerca gregaria* par l'H.C.H. *Bull. Off. nat. anti-acridien, Alger*, **2** (4), 5-22.

Perry (A. S.) — 1964. The physiology of insecticide resistance by insects. *in* « the Physiology of Insects ». *Rockstein, III*, 285-378. Academic Press.

Perry (A. S.) et Mattson (A. M.). — 1957. Technology Branch Summary of investigations 13, p. 131, (U. S. Public Health Service, Communicable disease Center, Savannah, Oa) (cité d'après Perry, 1964).

Perry (A. S.) et Sacktor (B.). — 1955. Detoxification of D.D.T. in relation to cytochromeoxydase activity in resistant and susceptible house-flies. *Ann. Ent. Soc. Amer.*, **48**, 329-33.

Pesson (P.). — 1960. Quelques problèmes posés au biologiste par les insectes résistants aux insecticides. XII° Symposium Intern. Phytopharmacie, Gand, 1960. *Med. Landbowhogeschool Opz. Staat. Gent*, 1960 *XXV*, 3-4, 993-1008.

Pesson (P.) et Ramade (F.). — 1959. Une méthode photographique adaptée à l'étude des tests insecticides sur *Musca domestica*, C. *R. Ac. Agric. France*, mars, 1-2.
1960. Étude d'une souche de *Musca domestica* I . résistante au lindane. Influence de divers facteurs sur cette résistance. *Ann. Inst. Nat. Agron. XLVI*, 15-36.
1964. Modalités de l'acquisition et de la perte de résistance au lindane dans une population de *Musca domestica*. *Phytiatrie et Phytopharmacie*, **13**, 203-209.

Pielou (D. P.) 1962. The non mutagenic action of D.D.T. and γ-B.H.C. in *Drosophila melanogaster* Meig. *Canad. J. Zool.* **30**, 375-77.

Pimentel (D.). Dewey (J. E.) et Schwardt (H.-H.). — 1951. An increase in the duration of the life cycle of D.D.T. resistant strain of the housefly. *J. econ Entomol.* **44**, 477-481.

Pimentel (D.). Schwardt (H. H.) et Dewey (J. E.). — 1953. Development and loss of insecticide resistance in the housefly. *J. econ. Entomol.*, **46**, 295-98.
1954. The inheritance of D.D.T. resistance in the housefly. *Ann. Ent. Soc. Amer.*, **47**, 208-13

Pistor (K.). — 1954. Histological Untersuchungen am Nervensystem von *Calliphora erythrocephala* Meig., nach Insektizidwirkung. *Naturwissenschaften*, **41**, 236-7.

Possompes (B.) — 1953. Recherches expérimentales sur le déterminisme de la métamorphose de *Calliphora erythrocephala*, Meig. *Arch. Zool. Exp. Gen.* Tome **89**, p. 203-364.

Possompes (B.), Charbonnière (J.) et Ralisoa (B.) — 1957, Évolution des CNS de la *pars intercerebralis*, croissance des ovocytes et ovoviriparité chez *Sarcaphaga argyrostoma*. *Ann. Soc. Ent. France.* (NS), T_3 (3), p. 593-9.

Pratt (J. Jr) et Babers (F. H.). — 1950. Cross tolerance in resistant houseflies. *Science*, **112**, n° 2901, 141-42.
1953. The resistance of insects to insecticides. Some differences between strains of house-flies. *J. econ. Entomol.*, **46**, 864-869.

Raabe (M.) — 1965. Étude des phénomènes dc neurosécrétion au niveau de la chaîne nerveuse ventrale des phasmides. *Bull. Soc. Zool. Fr. XC*, n° **5, 6**, p. 631.

RAABE (M.). — 1966. Recherches sur la neurosécrétion dans la chaine nerveuse ventrale du phasme, *Clitumnus extradentatus* : variations d'activité des différents élements neurosécréteurs. *C. R. Ac. Sci.*, **262**, 303-306.

RAABE (M.) et RAMADE (F.) — 1967. Observations sur l'ultrastructure des organes périsympathiques des phasmides. *C. R. Ac. Sci. Paris.* T. **264**, p. 77-80 (séance du 4 janvier 1967).

RAMADE (F). — 1962. Étude du développement post-embryonnaire du testicule et de la spermatogénèse chez l'asticot de *Musca domestica* L. *Ann. Inst. Nation. Agron. Paris*, **XXXI**, II, 1961 (1962), 1-81.

1963. Données sur le spectre de résistance aux insecticides d'une souche de *Musca domestica* L. *C. R. Ac. Agric. France*, 16 oct., 1961-66.

1965. L'action anticholinestérasique de quelques insecticides organophosphorés sur le système nerveux central de *Musca domestica* L. *Ann. Soc. Ent. Fr.* (N. S.) **I**, 3, 549-66.

1966. Rur l'ultrastructure de la *pars intercerebralis* chez *Musca domestica* L. *C. R. Ac. Sci. Paris*, **263**, 271-74.

1966. Sur la présence d'altérations ultrastructurales dans le cerveau de *Musca domestica* L., après intoxication au lindane. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 263, 371-73.

REIFF (M.). — 1955. Untersuchungen über den Lipoid und Proteingehalt der tarsen von *Musca domestica* L. Vergleich von sensiblen und insektzid resistenden Stämmen. *Verhand. Schweiz Naturforsch. Ges.*, 153-54.

1956. Untersuchungen des Aminosaüregehaltes der Hämolymphe bei imagines von verschiedenen *Musca domestica* Stämmen. *Verhand Schweiz. Naturf. Ges. Basel*, 133-34.

RICCIARDI (I.), NASCIMENTO (L. P.), SAOUZA (S. H.). — 1952. Observacœs sobre un mutante de *Musca domestica* L. aparecido depois de contato com o γ - H.C.H., em prova de laboratorio. *Rev. Brasil, Malar.*, **4**, 427.

RICHARDS (A. G.) et CUTKOMP (L. K.). — 1945. Neuropathology in insects. *J. N. Y. Entom. Soc.*, **53**, 313-55.

ROAN (C. C.), FERNANDO (H. E.) et KEARNS (C. W.). — 1950. A radiobiological study of 4 organic phosphates. *J. econ. Entomol.* **43**, 319-25.

ROAN (C. C.) et HOPKINS (Y. L.). — 1961. Mode of action of insecticides. *Ann. Rev. Entom.*, 6, 333-46.

ROCHE (A.) et LHOSTE (J.). — 1958. Action de quelques insecticides sur les corps de Nissl des ganglions thoraciques de *Drosophila melanogaster* Meig. et *Blatella germanica* L. *Bull. Soc. Ent. de France*, **63**, 181-84.

ROBERTSON (R. S.) et GAINES (J. C.). — 1951, The toxicity of certain organic insecticides to different strains of houseflies. *J. Econ. Ent.*, **44**, 1, 114/15.

SACKTOR (B.). — 1950. A comparison of the cytochrome oxydase activity of two strains of house flies. *J. econ. Entomol.*, **43**, 832-7.

SAGER (R.). — 1965. Genes outside the chromosomes. *Sci. Amer.*, **212**, 1, 72-81.

SALKED (E. H.) — 1951. A toxicological and histophysiological study of certain new insecticides as « stomach poison » to the honey-bee *Apis mellifera* L. *Canad. Ent.*, **83**, 39-61.

SAWICKI (R. M.) et HOLBROOK (D. V.). — 1961. The rearing, Handling and Biology of house flies (*Musca domestica* L.) for assay of insecticides by the application. of Measured Drops. *Pyrethrum Post*, **6**, 2, 3-18.

SCHARRER (B.) 1964. Histophysiological studies on the *Corpus allatum* of *Leucophaea maderae*. IV. Ultrastructure during normal activity cycle. *Zeit. Zellforsh.* **62**, 125-148.

SHEPPARD (H. H.). — 1947. The chemistry and toxicology of insecticides. Burgess Publishing C°, 426 Sth Six Street Minneapolis 15, Minn., 383 p.

SMALLMAN (B. N.), FISHER (R. W.) — 1958. Effect of anticholinestérases on acetylcholine levels in insects. *Canad. J. Biochem. Physiol.*, **36**, n° 6, 575-86.

SOKAL (R. R.) et HUNTER (P. E.). — 1955. A morphometric analysis of D.D.T. resistant and non-resistant house fly strains. *Ann. ent. Soc. Amer.*, **48**, 499-507.

SOMME (L.). — 1959. Resistance to chlorinated insecticides in Norvegian house-flies. *Nytt. Mag. For. Zool. Oslo*, **8**, 56-60.

1960. Resistance to organophosphorous insecticides in Norvegian house-flies. *Norsk. ent. tidskr. Oslo.* **11**, 150-159.

SRIVASTAVA (A.S.). — 1951. Studies on the modern insecticides, mechanism of physiological action of - B.H.C. *Indian Med. Record*, **71**, 43-50.

Srivastava (K. P.). — 1962. Effects of some insecticides on the gut-epithelia of certain-insects. *Proc. nation. Acad. Sci. India*, Sect. B, 32 n° 4, 393-98.

Stegwee (D.). — 1959. Esterase inhibition and organophosphorus poisoning in the house-fly. *Nature*, suppl. **184**, 1253-54.
1960. Some observations on the mode of action of the TEPP in the house-fly. XI. Int. Cong. Ent., III symp. 3 : chem. Insekt. Wien, 1960. Pavia, *Ist. Ent. Agraria* 23 × 17, 229-31.
1961. The role of esterase inhibition in T.E.P.P. poisoning in the housefly *Musca domestica*. *Canad. J. Bioch. Phys.*, **38**, 12, 1417-36.

Sternburg (J.), Chang (S. C.) et Kearns (C. W.). — 1959. The release of a neuro-active agent by *Periplaneta americana* after exposure to D.D.T. or electical stimulation.

Sternburg (J.) et Kearns (C. W.). — 1952. The presence of toxins other than D.D.T. in the blood of D.D.T. — poisoned roaches. *Science*, 116, 144-7.
1952. Metabolic fate of D.D.T. when applied to certain naturally tolerant insect. *J. econ. Entomol.* **45**, 3, 497-505.
1956. Pentachlorocyclohexene, an intermediate in the metabolism of lindane by house-flies. *J. econ. Entomol.*, **49**, 548-552.

Strong (L.). — 1965. The relationships between the brain, *Corpora allata*, and oöcyte growth in the central american locust, *Schistocerca* sp. I — The cerebral NS, the *corpora allata* and oöcyte growth. *Journ. Ins. Physiol.*, **11**, 2, 113-224.

Sun (Y. P.). — 1947. Action of fumigants on insects. *Minn. Agr. Exp. Sta. Tech. Bull.*, **177**, 104 p.

Thomsen (M.). — 1965. The neurosecretory system of the adult *Calliphora erythrocephala*. II. Histology of the neurosecretory cells of the brain and some related structures. *Zeits. Für. Zellforschung*, **67**, 693-717.

Tobias (J. M.) et al. — 1946. Acetylcholine and related substances in the coackroach, fly and crayfish and the effet of D.D.T. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **28**, 159-182.

Trehan (K. N.) et Pajni (H. R.) — 1961. Mode of action of insecticides. I. — Observations on the effect of Endrin on blood cell count of some insects. *Beitr. Entom. Deutsch.* **11**, 1-2.

Tsukamoto (M.). — 1964. Methods for the linkage groups determination of insecticide-resistance factors in the housefly. *Botyn-Kagaku*, **29**, 51-59.

Tsukamoto (M.), Baba (Y.) et Hiraga (S.). — 1961. Mutations and linkage group in Japanese strains of the housefly. *Jap. Journ. Gen.*, **36** (5-6), 168-174.

Tsukamoto (M.), Ogaki (M.) et Kikkawa (K.). — 1957. Genetical analysis of resistance to insecticides in *Drosophila melanogaster*. *Cytologia*, suppl. 442-44. Proc. Int. Genetic Symposia, 1956.

Van Asperen (K.). — 1958. Mode of action of Organophosphate insecticides. *Nature*, 181, 355-356.
1958. The mode of action of an Organophosphorous insecticide (D.D.V.P.). *Ent. Exp. et appl.*, **1**, 130-137.
1960. Toxic action of organophosphorous compounds and esterase inhibition in houseflies. *Biochem. Pharmacol.*, **3**, 136-146.
1962. A study of housefly esterases by means of a sensitive colorimetric method. *J. Ins. Physiol.* **8**, 401-416.
1964. Biochimistry and genetics of esterases in houseflies (*Musca domestica)* with special reference to the development of resistance to organophosphorous compounds. *Ent. Exp. et appl.*, **7**, 205-214.

Van Asperen et Oppenoorth (F. J.). — 1954. Metabolism of γ-B. H.C. in the animal body. *Nature*, **173**, 1000.

Varzandeh (M.), Bruce (W. N.), Decker (G. C.). — 1954. Resistance to insecticides as a factor influencing the biotic potential of the housefly. *J. econ Entomol.*, **47**, 129-34.

Wiesmann (R.). — 1947. Untersuchungen über das physiologische verhalten von *Musca domestica* verschiedener Provenienzen. *Mitt. Schweiz. ent. ges.*, **20**, 484-504.
1949. Die Eintrittespforten des D.D.T. am Insektenkörper. *Mitt Schweiz. Ent. Ges., Berne*, **22**, 257-91.
1955. Vergleichende untersuchungen uber die Reizleitung normal-sensibler und resistenter Imagines von *Musca domestica* L. ünter der Einwirkung von D.D.T. substanz. (Grundlagen Zur Resistenzforschung 3. Mitteilung). *Mitt. Schweiz. ent. Ges. Berne*, **28**, 251-273.

1956. Vergleichend untersuchungen an normalsensiblen und resistenten Stammen von *Musca domestica* L. Verh. *Verh. Schweiz. naturf. Ges. Bâle*, 136, 132-33.
1957. Vergleichen histologische Untersuchungen an normalsensiblen und gegen D.D.T. substanz resistenten stammen von *Musca domestica* L. *J. ins. Physiol.* **1**, 187-97.

Wiesmann (R.) et Reiff (M.). — 1956. Untersuchungen über die bedeutung der Lipoide bei der insektizidresistenz von *Musca domestica* L. *Verk. Naturf. Ges. Basel*, **67**, 2, 311-40.

Wigglesworth (V. B.). — 1941. Histopathology of Pyrethrum : *Rhodnius. Proc. Roy. Ent. Soc.*, A, **16**, 11-14.

Wilcoxon (F.) et Hartzell (A.) 1933. Histopathology of pyrethrum : *Tenebrio. Contr. Boyce Thomson Inst.*, **5**, 115-27.

Williams (C. M.). — 1946. Anaesthesia by carbon dioxyde. *Science*, **103**, 57.

Wilson (H. S.),. Gahan (J. B.) et Mc Duffie (W. C.). — 1953. Toxicity of vapours of four chlorinated Insecticides to resistant houseflies. *J. econ. Entomol.*, **46**, 699-700.

Winteringham — 1957. Comparative biochemical aspects of insecticidal action. *Chem. and Industry*, **36**, 1195-204.

Winteringham (F. P. W.) et Harrison (A.). — 1959. Mechanisms of resistance of adult houseflies to the insecticide dieldrin. *Nature*, **184**, 608-610.

Winteringham (F. P.) et Lewis (S. E.). — 1959. On the mode of action of insecticides. *Ann. Rev. Ent.*, 303-318.

Yamasaki (T.) et Narahashi (T)., 1958. Resistance of houseflies to insecticides and the susceptibility of nerve to insecticides. Studies on the mechanism of action of insecticides. XVII — *Botyu-Kagaku-, Kyoto*, **23**, 146-57.

Yeager (J. F.), Mac Govran. — 1942. L'effet du blocage des hémocytes à l'encre de chine et de la coloration des néphrocytes au bleu trypan sur la résistance de *Periplaneta americana* L. à la nicotine. *Ann. Soc. Amer. Entom.*, **35**, 23-40.

Zakolodkina (V. I.). — 1963 a. Vliianiè D.D.T., G.K.T.G., Klorophossa i Karbophosa na morphologiiy tkaneï komnatoï mykhi soderjaniè ribonykleinoboï kislotoui i arginina i aktivnosti tsitokhromoksidazoui i syktsinodejidrazoui (en russe). *Travaux de l'Intitut central de recherches prophylactiques. Ministère de la Santé publique de l'U.R.S.S.*, **16**, 265-270.
1963 b. Cytochrome oxydase and succinic deshydrogenase activity in tissues of the house fly (*Musca domestica*) after exposure to some insecticides. *J. hyg. Epid. Microb. Immun. Czechosl.* **7**, 1, 97-105.

PLANCHES

Abréviations utilisées dans les planches

Ax : axone.
Cc : corps central.
cd : corps dense.
C Fl : cellules folliculaires.
Cg : neurone géant.
Cn : cortex nucléaire.
Cnp : cellules nourricières pycnotiques.
Cnr : cellules nourricières.
C Ns : cellules neurosécrétrices.
Er : ergastoplasme.
Fj : follicule ovarien jeune.
Fn : follicule ovarien normal.
Fo : foramen œsophagien.
Fp : follicules pycnotiques.
G : globuli.
g : golgi.
Gl : gliocytes.
Mi : mitochondries.
Mv : corps multivésiculaire.
Nc : nucléole.
Nov : granules élémentaires de neurosécrétion osmiophobe (vides).
Ns : granules élémentaires de neurosécrétion osmiophiles.
Nt : neurotubules.
Ny : noyau.
Ov : ovocytes.
Ovp : ovocytes pycnotiques.
Tp : tige des corps pédonculés.
v : vacuole.

PLANCHE I. — Lésions histopathologiques provoquées par l'intoxication au lindane dans le cerveau de mouches domestiques âgées de 5 jours appartenant à la souche O.M.S. (coupes transversales effectuées au niveau du corps central).

A. — Cerveau témoin; *B*. — cerveau prélevé sur une mouche disséquée au début du stade clonique (knock-down) après empoisonnement avec 0,06 µg de lindane; *C*. — cerveau prélevé sur un individu en phase de paralysie avec la même dose de toxique (Fixation Helly, coloration à la fuschine paraldéhyde-hémalun picro-indigo carmin). On remarque qu'il apparaît de nombreuses vacuoles dans les neuropiles des cerveaux intoxiqués.

PLANCHE I

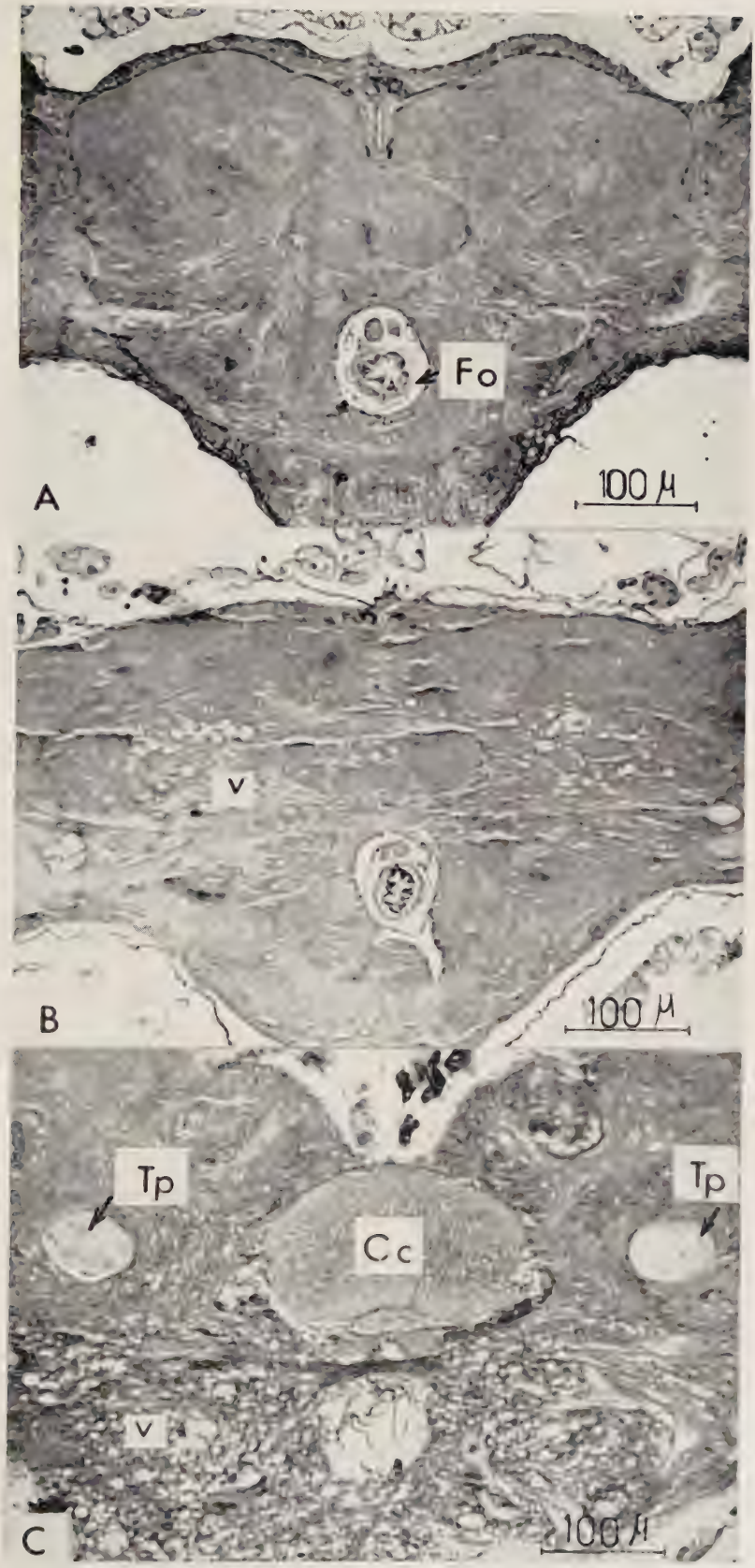


PLANCHE II

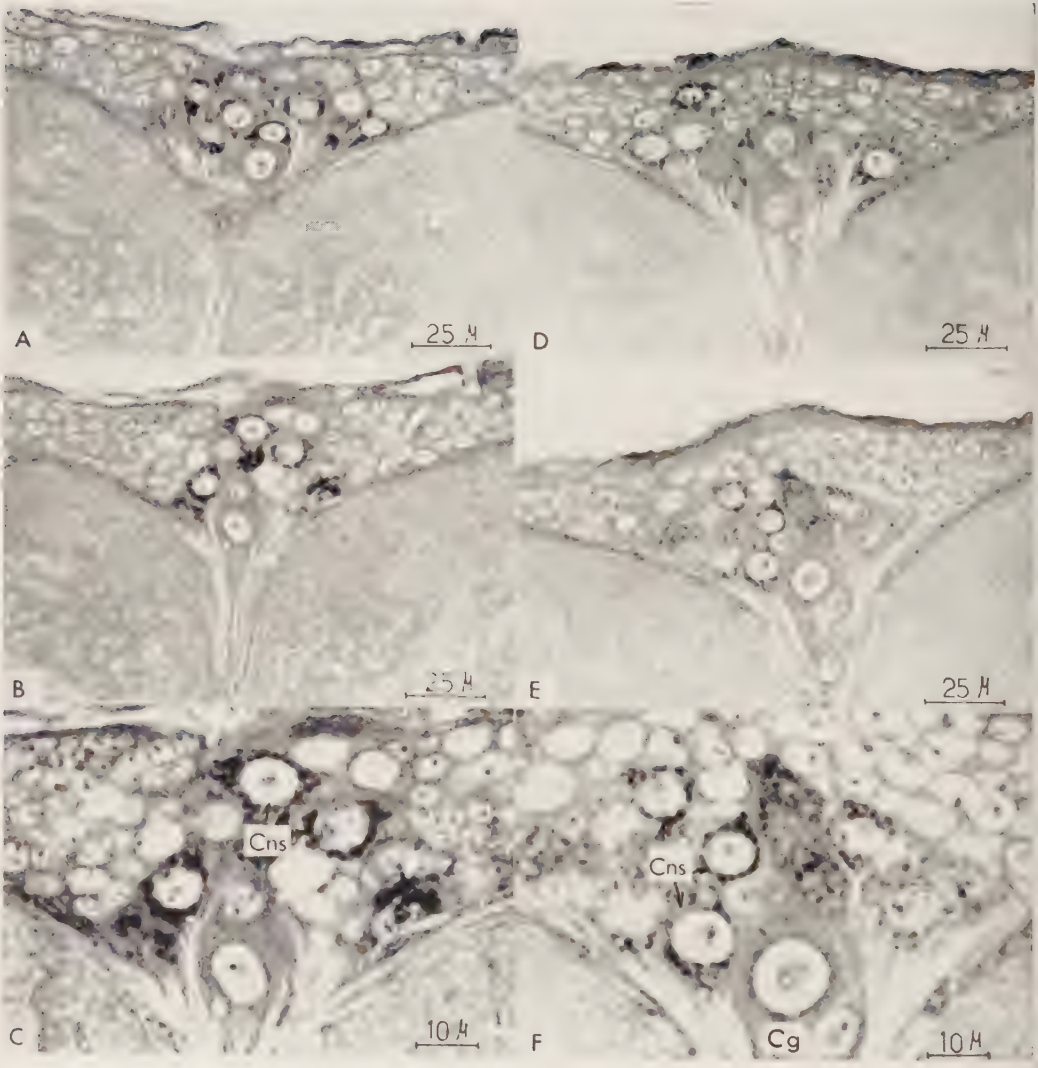


Planche II. — Altération de l'activité neurosécrétrice dans la *pars intercerebralis* de mouches âgées de 3 jours, ayant survécu à un traitement avec une dose de 0,05 µg de lindane.

A, *B*, *C*, cerveaux intoxiqués; *D*, *E*, *F*, cerveaux témoins. On remarque une plus forte colorabilité des cellules neurosécrétrices dans la *pars intercerebralis* des cerveaux intoxiqués ainsi que des flaques de neurosécrétion plus étendues et plus nombreuses que dans le témoin. Ces images traduisent un blocage des neurosécrétions dans le perikaryon des neurones, chez les insectes intoxiqués.

Planche III. — Intoxication chronique au lindane et développement ovarien. Les figures *A* à *D*, représentent des ovaires prélevés sur des mouches domestiques âgées de 5 jours, traitées 24 heures après leur éclosion par 0,02 µg de lindane (dose ayant provoqué 40 % de mortalité en 24 h). On constate que ces ovaires présentent un aspect juvénile et un retard de développement considérable, par rapport aux ovaires prélevés sur des individus normaux du même âge (fig. *E* à *H*). Les ovaires des individus traités et des témoins présentés dans cette planche ont été pris au hasard dans des lots comportant 20 individus.

PLANCHE III

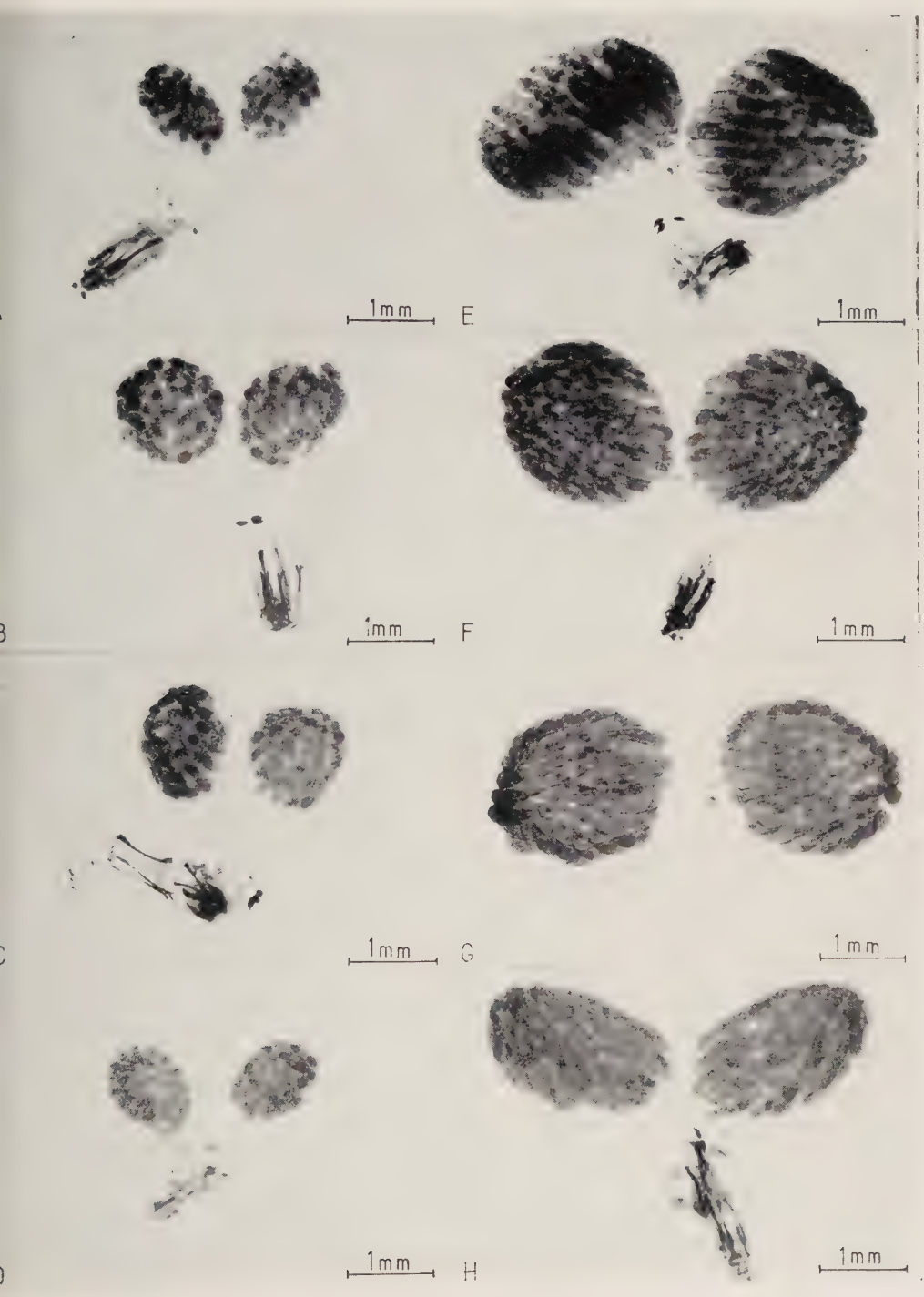
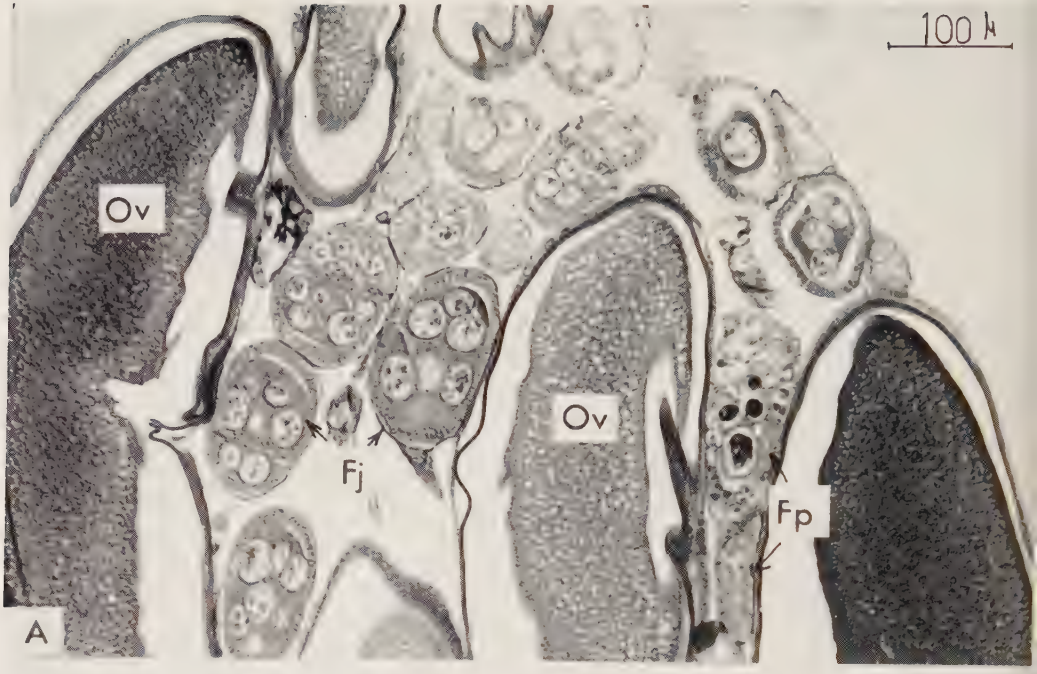


PLANCHE IV



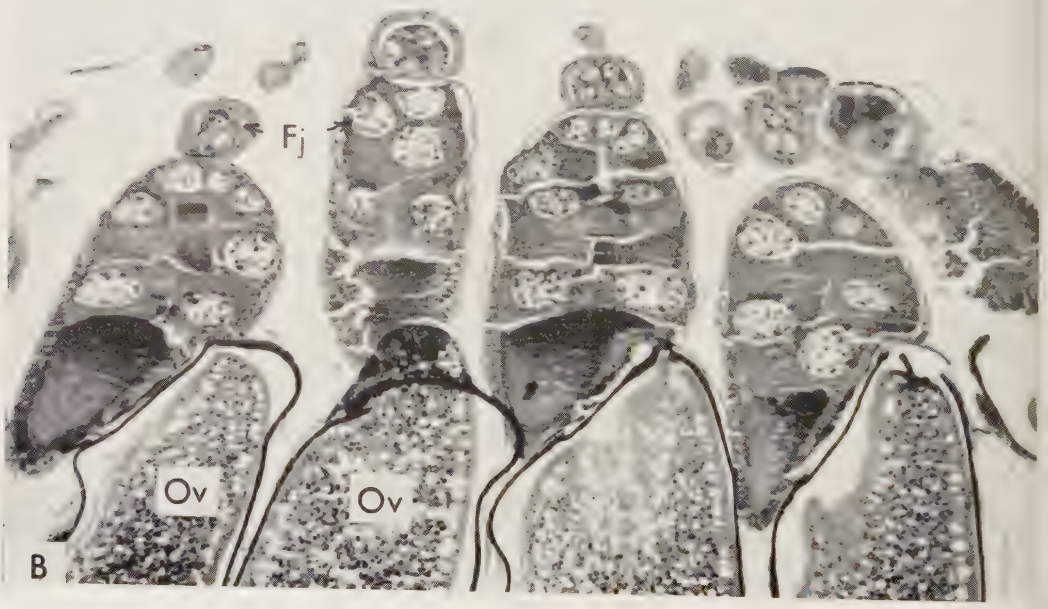


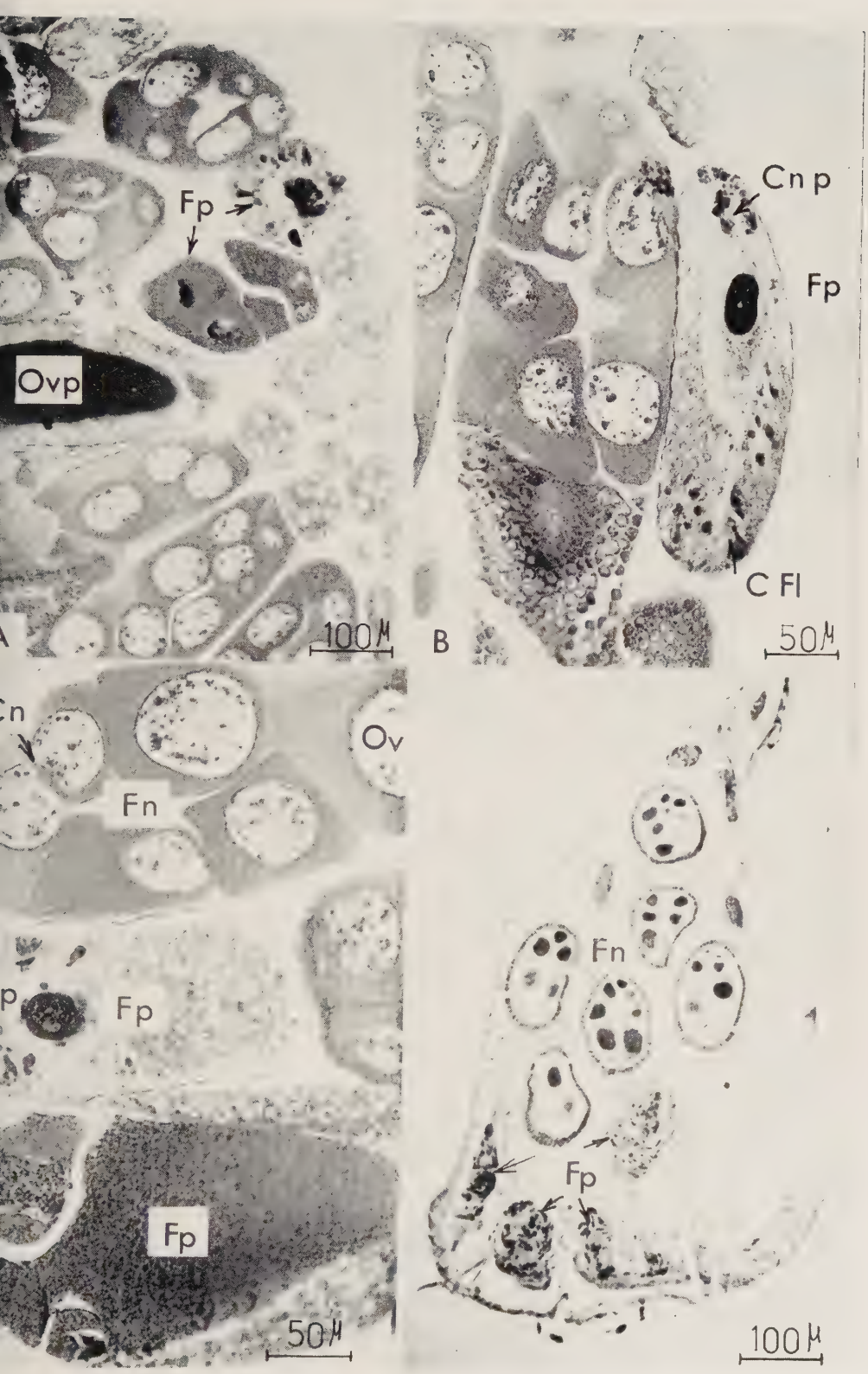
Planche IV. — Intoxication chronique au lindane et développement ovarien.

Fig. *A*. — Coupe d'ovaire prélevé sur une femelle âgée de 6 jours ayant subi une intoxication chronique (larves élevées dans un milieu renfermant une concentration de lindane égale à la CL 50 et dont les adultes des deux générations précédentes ont été traités dès l'éclosion avec une dose de lindane ayant provoqué 70 p. 100 de mortalité (souche O.M.S.).

Fig. *B*. — Témoin du même âge. Alors que toutes les ovarioles du témoin renferment des ovocytes mûrs, on constate dans l'ovaire prélevé sur une femelle intoxiquée chroniquement, un développement asynchrone des ovarioles provenant d'un retard ou d'une inhibition de la vitellogénèse dans certains follicules. On observe en outre des pycnoses plus nombreuses dans les ovaires des idividus intoxiqués (fixation Bouin-Coloration à l'Azan).

PLANCHE V. — Atrésies folliculaires dans les ovaires de mouches ayant subi une intoxication au lindane.

Fig. *A*, *B*, *C*, vues de détail d'un ovaire prélevé sur une mouche âgée de 7 jours : intoxication chronique au lindane depuis 3 générations (Bouin-Azan) : parmi les follicules en voie de maturation s'observent des figures d'atrésies. Remarquer dans les figures B et C la multiplication des cellules folliculaires (*C F*) qui comblent l'espace laissé libre par l'ovocyte pycnotique (*OvP*) et les cellules nourricières pycnotiques (*CNP*). Ultérieurement, les cellules nourricières dégénèrent à leur tour. Sur la figure *C*, le follicule situé en haut du cliché est normal, celui du milieu et du bas sont en voie d'atrésie. Fig. *D*, vue d'ensemble d'un ovaire de mouche empoisonnée à l'âge de 8 jours avec 0,04 µg de lindane et disséquée 5 jours après. La maturation des follicules correspondant au second stade gonotrophique est en retard, sinon bloquée, au début du dépôt vitellin; en outre, les quatre ovocytes les plus âgés (en bas du cliché) sont pycnosés (Fixation Champy, coloration Feulgen, contre coloration au Picr-oindigo-carmin).


Fp
Ovp
100 µ
Cn p
Fp
C Fl
B
50 µ
Cn
Ov
Fn
p
Fp
Fp
50 µ
Fn
Fp
100 µ

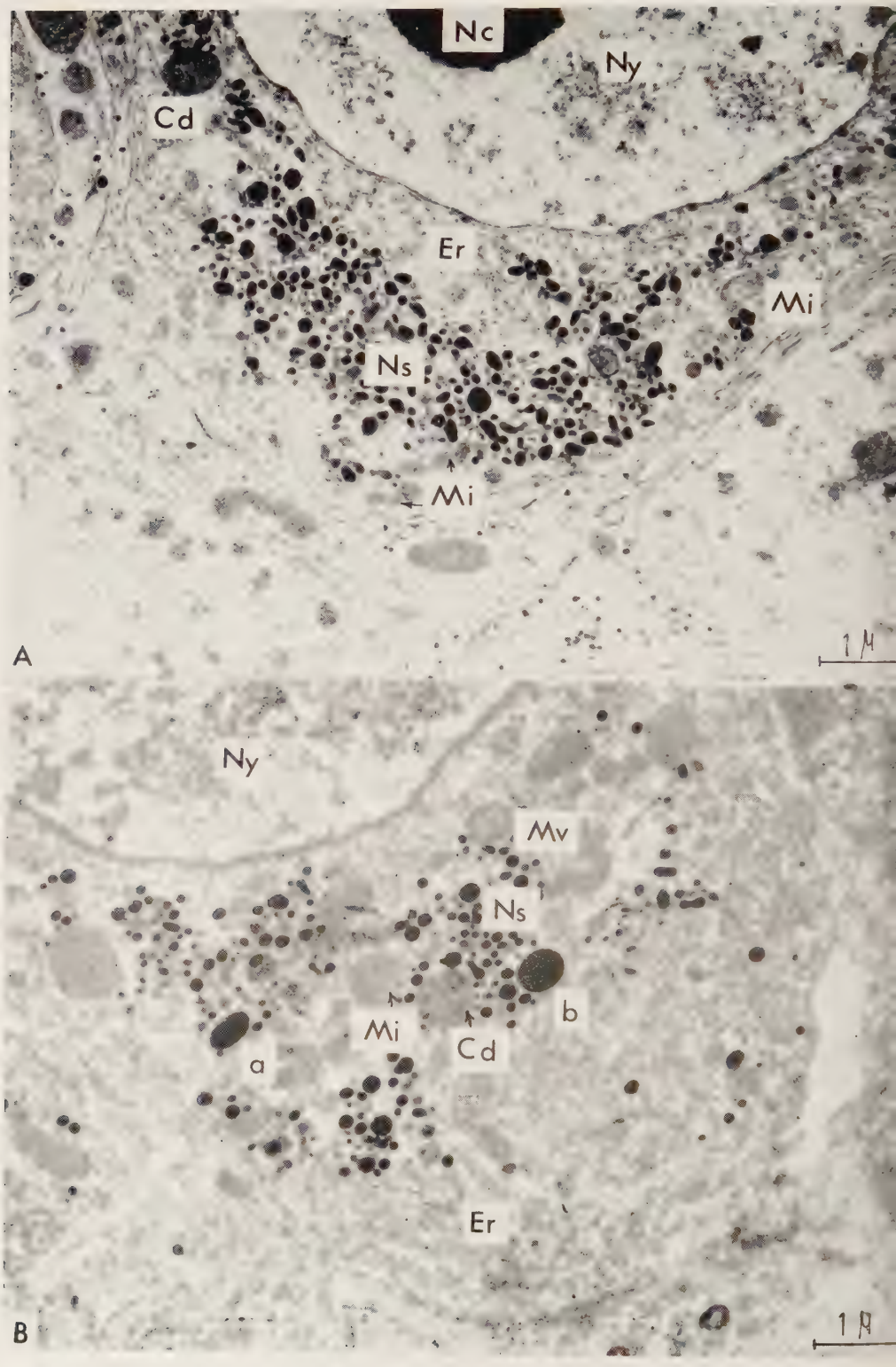

Nc
Ny
Cd
Er
Mi
Ns
Mi
A
1 M
Ny
Mv
Ns
b
Mi
Cd
a
Er
B
1 M

Planche VI. — Lésions ultrastructurales provoquées par l'intoxication au lindane dans les cellules neurosécrétrices de la *Pars intercerebralis* chez la mouche domestique.

Fig. *A*. — Cellules neurosécrétrice normale d'un témoin.

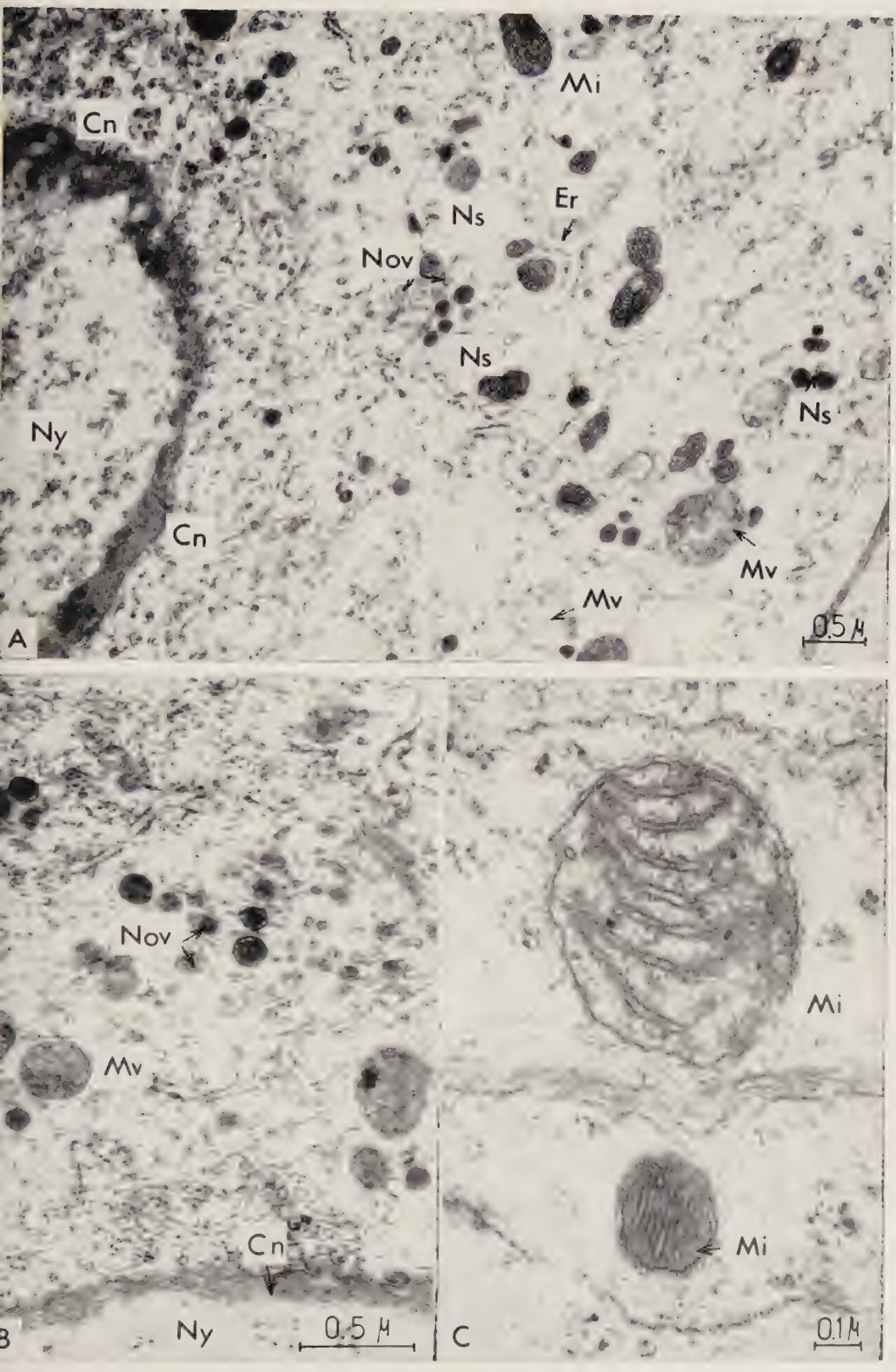
Fig. *B*. — Vue partielle (même grandissement) d'une cellule neurosécrétrice du même type de la *pars intercerebralis* d'une mouche de même âge (6 j) intoxiquée avec 0,02 µg de lindane et disséquée après 24 heures, alors qu'elle avait survécu au traitement mais présentait cependant quelques séquelles de l'empoisonement.

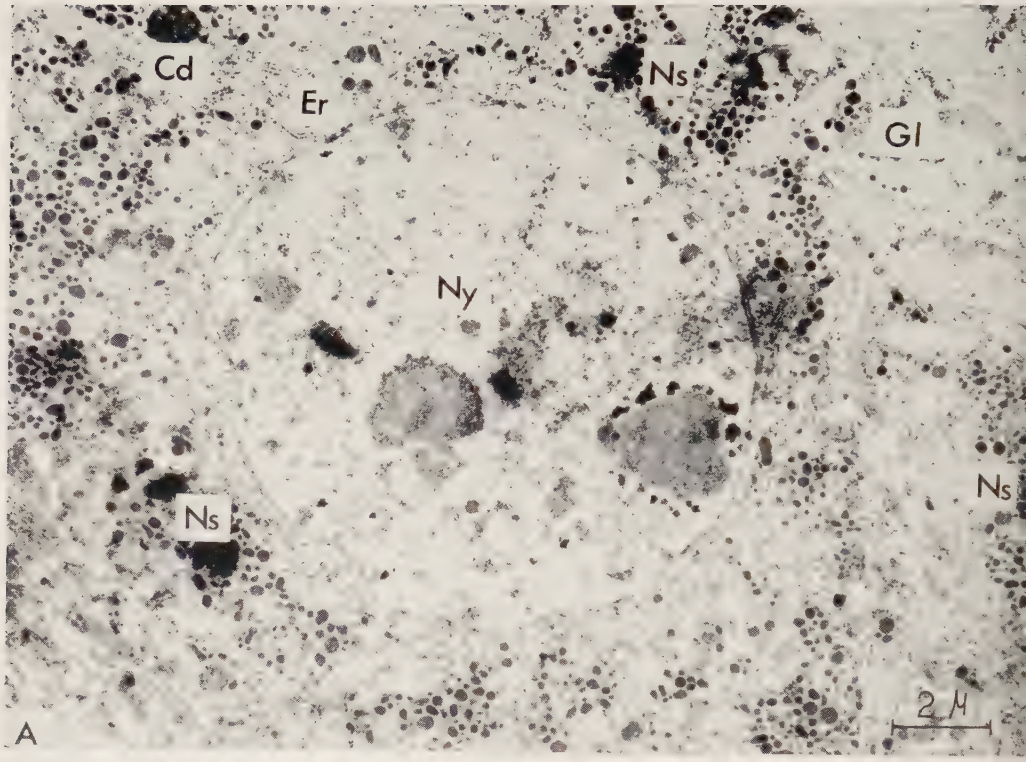
On remarque sur la figure *B* une diminution importante du nombre des granules élémentaires de neurosécrétion, certains semblent fusionner et donner des grains de taille anormale (en *a* et *b*). Fixation à l'acide osmique à 1 p. 100 tamponné à pH 7,4 au tampon phosphate (Millonig), inclusion à l'Epon, coupes ultrafines aux microtomes Reichert OMU I et II, contraste par l'acétate d'urane-citrate de plomb. Les clichés ont été réalisés au microscope Hitachi HS 7.

Planche VII. — Lésions ultrastructurales provoquées par l'intoxication au lindane, dans les cellules neurosécrétrices de la *pars intercerebralis*, chez la mouche domestique.

Fig. *A* et *B*. — Vue partielle d'une cellule neurosécrétrice prélevée sur une mouche domestique au stade clonique (knock-down) après 24 heures d'intoxication. Le nombre de grains de neurosécrétion a beaucoup diminué et il apparaît en outre de nombreux corps multivésiculaires (*Mv*). On remarque sur la figure *B* que certains grains de neurosécrétion semblent se vider de leur contenu tandis que la zone corticale se plisse (*Nov*). Remarquer aussi le cortex nucléaire (*Cn*) résultant d'un épaississement de la membrane nucléaire, que l'on observe chez certaines cellules neurosécrétrices.

Fig. *C*. — Altération des mitochondries consécutive à l'intoxication dans une cellule neurosécrétrice. Les mitochondries se distendent tandis que leurs crêtes, peu visibles à l'état normal, se dissocient et deviennent très distinctes. Toutes les photos de cette planche ont été réalisées selon les mêmes techniques de microscopie électronique que celles de la planche VI, mais les inclusions ont été réalisées à l'araldite.


Cn
Mi
Er
Ns
Nov
Ns
Ns
Ny
Cn
Mv
Mv
A
0.5 μ
Nov
Mv
Cn
Ny
0.5 μ
Mi
Mi
C
0.1 μ


Cd
Er
Ns
Gl
Ny
Ns
Ns
2 µ
A

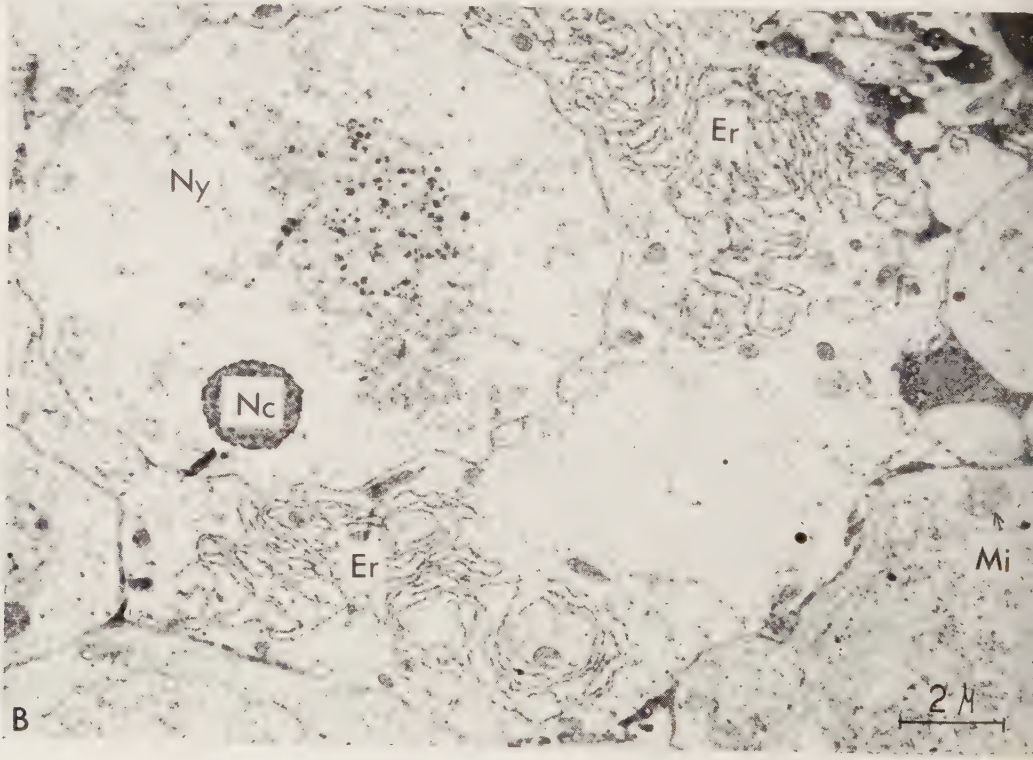

Ny
Er
Nc
Er
Mi
2 µ
B

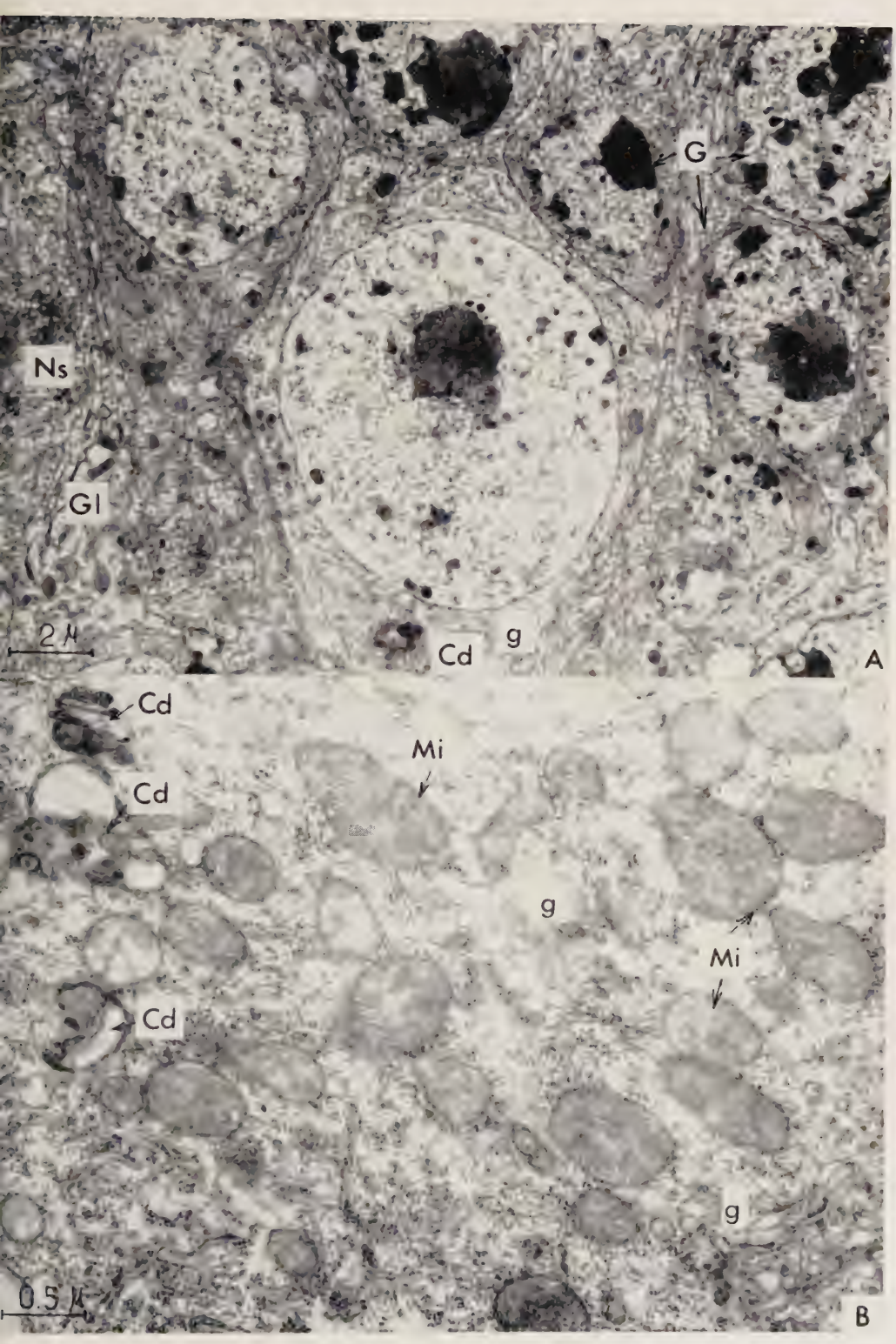
PLANCHE VIII. — Lésions ultrastructurales provoquées par le lindane dans les cellules neurosécrétrices de la *pars intercerebralis* chez la mouche domestique.

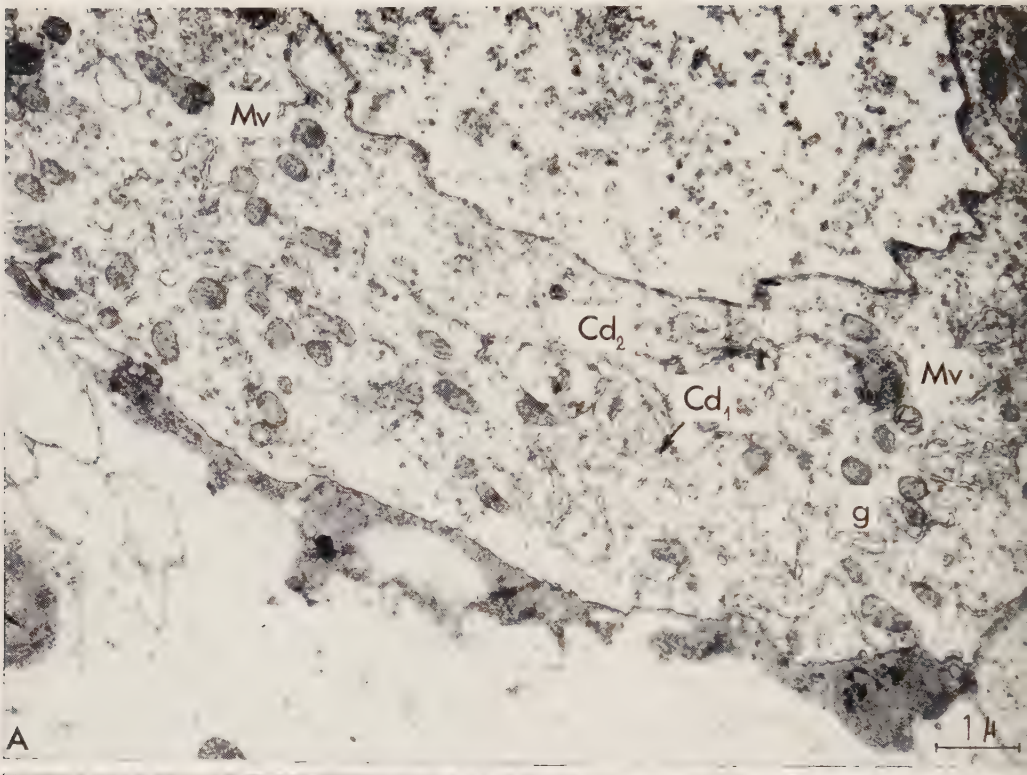
Fig. *A*, cellules d'un cerveau normal. Remarquer les nombreux grains de neurosécrétions répartis dans tout le cytoplasme et les feuillets ergastoplasmiques disposés parallèlement (fixation 30 mn au Glutaraldéhyde à 2 % puis à l'acide osmique tamponné à pH 7,6, les autres opérations ont été réalisées selon les techniques décrites précédemment.

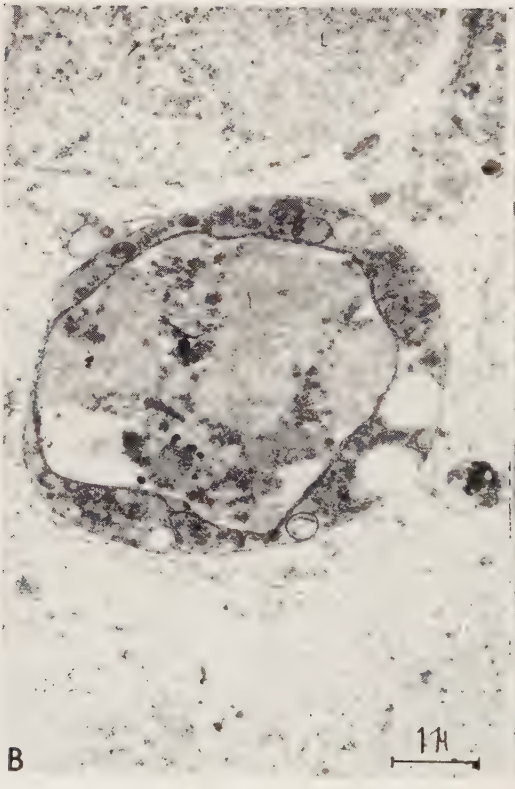
Fig. *B*, cellule du même type dans le cerveau d'une mouche paralysée par 0,06 µg de lindane, après plusieurs heures d'intoxication. Les granules élémentaires de neurosécrétion ont presque entièrement disparu et l'ergastoplasme constitue, par place, de grandes masses, spiralisées. La membrane nucléaire présente par ailleurs un plissement accentué.

Planche IX. — Fig. *A*, vue d'ensemble d'une partie latérale de la *pars intercerebralis* chez une mouche non intoxiquée. On distingue un neurone de taille moyenne, non neurosécréteur et quatre globuli en haut et à droite du cliché.

Fig. *B*, vue de détail du perikaryon d'un neurone provenant d'un cerveau d'une mouche intoxiquée au lindane et fixé au stade clonique. Il se produit un net gonflement des mitochondries dont les crètes commencent à se disjoindre. On observe en haut et à gauche trois corps denses de type lysosome. Remarquer aussi la dilatation anormale des vésicules golgiennes.


G
Ns
Gl
2 µ
Cd
g
A
Cd
Cd
Mi
g
Mi
Cd
g
0.5 µ
B


Mv
Cd2
Cd1
Mv
g
A
1 µ


B
1 µ

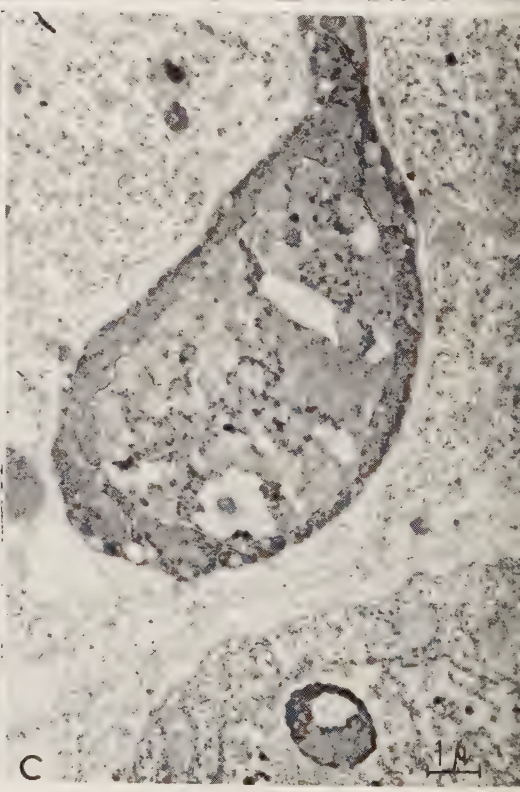

C
1 µ

Planche X. — Fig. *A*, grand neurone non neurosécréteur provenant du cerveau d'une mouche intoxiquée avec 0,06 µg de lindane et disséquée au stade de la paralysie. On remarque de nombreux corps denses et des corps multivésiculaires (*cd-MvH*); certaines images suggèrent le passage de l'un à l'autre type de ces structures lysosomiales (*cd*1, *cd*2). Par ailleurs, le noyau présente des contours irréguliers résultant d'une diminution du volume nucléaire observée également en micros, copie ordinaire.

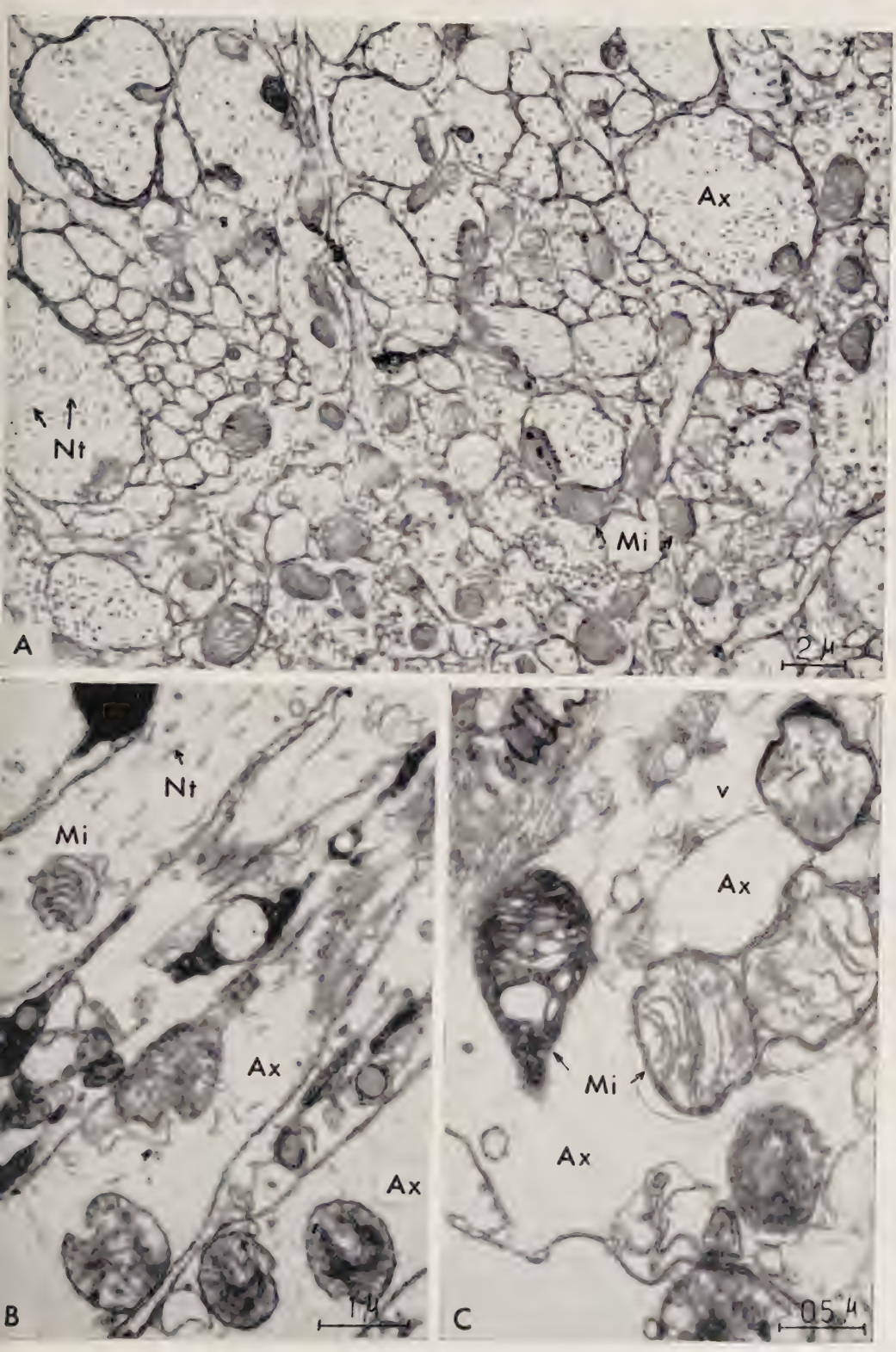
Fig. *B* et *C*, Globuli pycnotiques dans un cerveau de mouche paralysée, après 24 heures d'intoxication au lindane.

PLANCHE XI. — Altérations ultrastructurales dans les axones après intoxication au lindane.

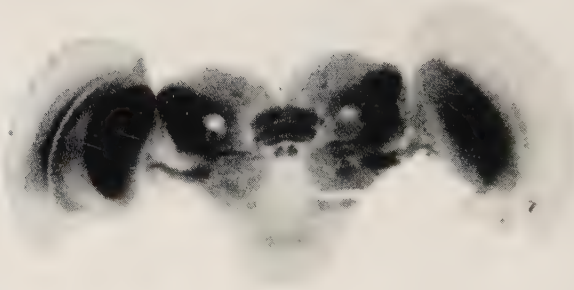
Fig. *A*, coupe transversale d'axones dans un neuropile de cerveau normal. Remarquer les mitochondries aux crêtes serrées et peu distinctes ainsi que les nombreuses sections transversales de neurotubules (Nt).

Fig. *B*, section longitudinale d'axones dans un cerveau de mouche au stade clonique après intoxication avec 0,06 µg de lindane.

Fig. *C*, section transversale dans le même cerveau que la figure *B*. On remarque la formation de vacuoles dans les axones, la diminution du nombre de neurotubules et surtout le gonflement des mitochondries dont les crêtes se disjoignent et deviennent de ce fait très apparentes.


Ax
Nt
Mi
A
2 µ
Nt
Mi
Ax
Ax
B
1 µ
v
Ax
Mi
Ax
C
0.5 µ

A



B

C

PLANCHE XII. — Activité cholinestérasique dans des cerveaux de *Musca domestica* (détectée par la méthode de KŒLLE modifiée par COUTEAUX). Fixation au formol neutre salé 30 mn, coupes à congélation de 25 μ d'épaisseur, incubation dans le milieu à l'acétylthiocholine 1 h 30 (microphotographies P. VALLÉE).

Fig. *A*, cerveau normal.

Fig. *B*, cerveau prélevé après intoxication avec 0,4 μg de fenthion (mouche au stade choréo-ataxique) diminution d'activité très nette dans la région protocérébrale et le ganglion sous-œsophagien; activité encore intense dans les glomérules deutocérébraux.

Fig. *C*, cerveau d'une mouche traitée comme celle de la figure *B*, intoxication un peu plus avancée (ici la coupe est pratiquée au niveau du corps central). Remarquer la forte diminution d'activité dans les centres moteurs protocérébraux, le ganglion sous-œsophagien et les *laminae ganglionares*.

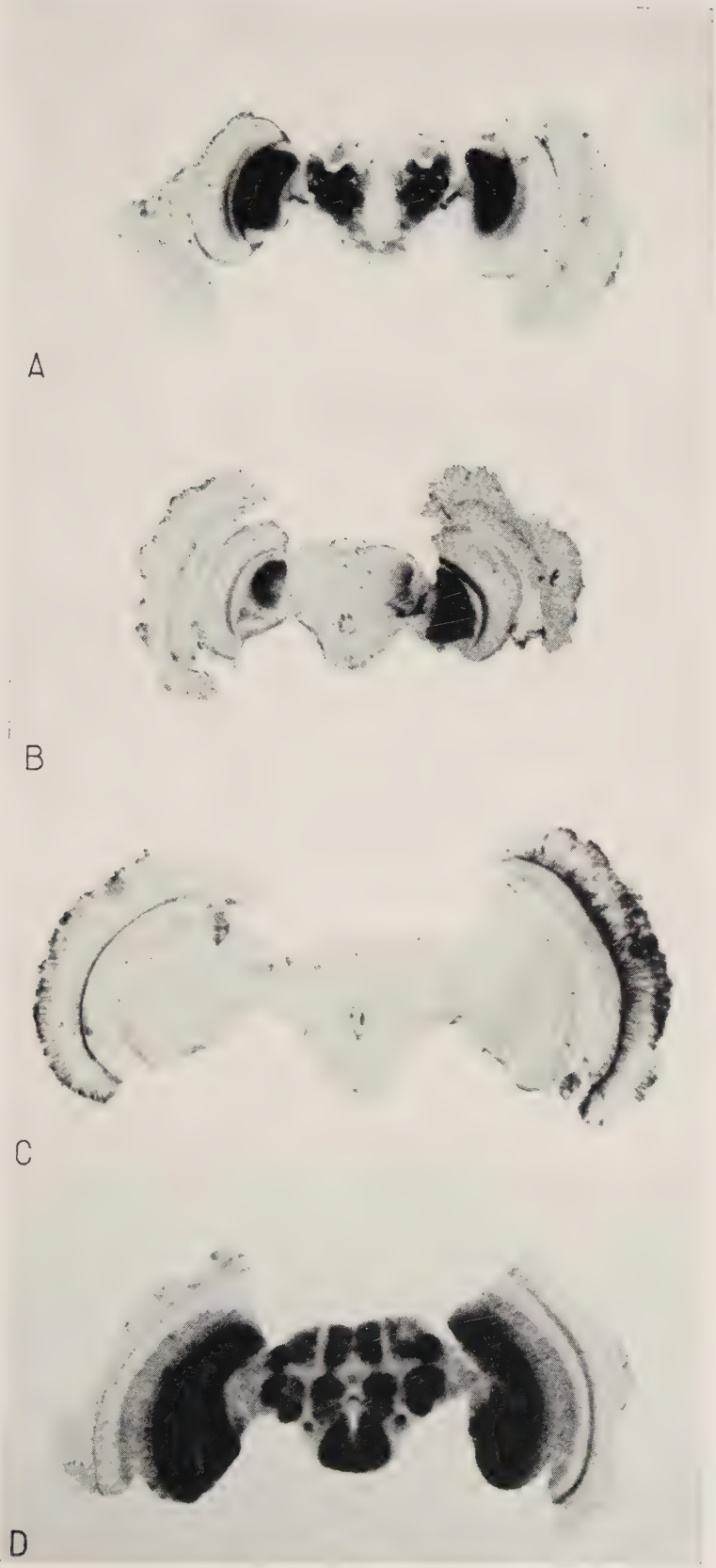
Planche XIII. — Activités cholinestérasiques dans les coupes transversales de cerveaux de *Musca domestica* intoxiquées par divers esters phosphoriques (même technique de détection que pour la planche XII).

Fig. *A*, intoxication avec 0,08 µg de fenthion (cerveau prélevé à la fin du stade choreo-ataxique). Diminution d'activité particulièrement nette dans les centres proto-cérébraux, dans les *corpora pedonculata* et dans le ganglion sous-œsophagien, début d'inhibition dans les lobes optiques.

Fig. *B*, intoxication avec 0,3 µg de parathion, (cerveau prélevé au stade clonique ou « knock-down », inhibition totale dans le cerveau, légère activité dans les lobes optiques.

Fig. *C*, intoxication par 1 µg de fenthion (cerveau prélevé au stade clonique) inhibition totale de l'activité cholinestérasique.

Fig. *D*, intoxication avec 2,5 µg de dipterex (cerveau prélevé sur un insecte paralysé) légère diminution d'activité dans les *laminae ganglionares* et la région proto-cérébrale.


A
B
C
D

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

" DONNÉES HISTOCHIMIQUES ET ULTRASTRUCTURALES SUR LA *PARS INTERCEREBRALIS* DE *MUSCA DOMESTICA* L. "

Vu et approuvé :

Paris, le 25 Novembre 1967

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Marc ZAMANSKY

Vu
et Permis d'imprimer

Le Recteur de l'Académie de Paris,

Jean ROCHE

IMPRIMERIE ALENÇONNAISE
B, P. 57
61 - ALENÇON - FRANCE
44.118